ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР

ОТДЕЛЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКИХ И ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES

SERIE BIOLOGIQUE

№ 6

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР

Москва ★ 1936

Напечатано по распоряжению Академии Наук СССР
Непременный секретарь академии Н. Горбунов

Ответственный редактор — академик-секретарь
Отделения математических и естественных наук
академик А. Е. Ферсман

Редакционная коллегия — Президиум биологической группы ОМЕН:
акад. В. Л. Комаров, акад. С. А. Зернов, акад. Б. А. Келлер,
акад. Г. А. Надсон

Ответств. секретарь Е. Д. Рамонов
Редактор серии И. Трабский

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS
Classe des sciences mathématiques et naturelles
Отделение математических и естественных наук

П. Н. КАПТЕРЕВ

ОБ АНАБИОЗЕ В УСЛОВИЯХ ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЫ

Опыты оживления организмов производились в 1934—1936 гг. над пробами ила с растительными остатками, взятыми из вечномерзлых грунтов близ ст. Сковородино Амурской ж. д. (ДВК) с глубины 2.10—4.25 м. Ожило до 20 родов водорослей—зеленых, сине-зеленых и диатомовых, гифы гриба, протонема и стебельки мха, ракообразное *Chydorus sphaericus*.

Вопрос о так называемом анабиозе организмов исследуется в нескольких направлениях и в различных плоскостях. Так, например, изучается анабиоз при высыхании и при низких (реже — высоких) температурах. В рамках каждого из этих факторов изучаются, с одной стороны, крайние степени высыхания и предельные температуры, которые способны переносить организмы, а с другой — изучается длительность сохранения жизнеспособности организмов при воздействии этих факторов. Наконец, совершенно особо приходится изучать эти воздействия в применении или к уже сформированным индивидуумам или к их зародышам, т. е. семенам, спорам, яйцам и т. д. На основании многочисленных существующих работ намечаются как будто следующие основные выводы:

1. Как высыхание, так и применение самых низких температур (до — 271°) [Рам (Rahm), 1920—1926; Беккерель (Becquerel), 1904—1932, и др.] принципиально не уничтожает жизнеспособности не только у спор бактерий и мхов, но и у семян некоторых растений, а также и у некоторых многоклеточных животных (коловратки, тихоходки, нематоды).

2. Полное промерзание сформированных индивидуумов, содержащих значительное количество воды, с образованием ледяных кристаллов внутри их клеток и тканей, влечет, повидимому, за собой смерть индивидуума (Сахаров, 1928; Калабухов, 1933—1935).

Кажущееся как будто противоречие между этими выводами сводится, по преобладающему мнению, к тому, что всякие споры, семена и яйца содержат несравненно меньше воды, нежели взрослые формы, и потому полное промерзание в них или вовсе не наступает, или

получается с большим запозданием, при более низких температурах, а также, возможно, протекает в иных формах, нежели это обычно бывает у вполне развитых особей.

Вопрос о воде имеет, несомненно, первостепенную важность, но дело не только в ее количестве. Хотя мы и принуждены до сих пор употреблять слово «вода» безразлично во всех случаях, но все же мы уже знаем, что вода — это чрезвычайно сложное вещество. Не говоря уже о «тяжелой» воде и, может быть, воде, содержащей «тритий», прежде всего приходится считаться со сложностью молекул, входящих в состав обыкновенной воды.

«Можно допустить, что комплексные молекулы воды представляют коллоидные частицы огромного молекулярного веса, весьма тонкой и нежной структуры, различные изменения которой могут быть обнаружены лишь биометодами» (Фрицман, 1935). Мы еще слишком недостаточно знаем физико-химические свойства воды вообще, тем более воды, содержащейся в организмах. Возможно, что многие невязки в опытах над анабиозом объясняются именно этим обстоятельством, и можно надеяться, что более углубленное изучение видов воды и их свойств в организмах прольет свет и на до сих пор еще темные стороны явлений анабиоза. Некоторые шаги в этом направлении уже делаются (Калабухов, 1935).

3. Многие организмы, а особенно их зародыши (семена, яйца, споры), способны сохранять жизнеспособность, не проявляя признаков дальнейшего развития в течение иногда десятков лет. Например, из семян мотылькового *Cassia bicapsularis*, хранившихся 87 лет, проросло 30% (Becquerel, 1907); для наиболее долговечных семян (мотыльковых) можно принять за предел всхожести 150—250 лет (Юарт, П. Ю. Шмидт, 1935). Коловратки и ракообразные оживали из яиц, сохранявшихся в сухом иле 15—20 лет [Блан (Blanc), 1929]. Еще более продолжительное время сохраняли жизнеспособность споры водорослей в опытах мисс Бристоль. Но все эти данные касаются только действия высыхания, но не низких температур. Совершенно ясно, что вопрос о длительности сохранения жизнеспособности организмов не совпадает с вопросом о предельно-низких температурах, которые они могут переносить, а между тем почти все опыты производятся именно в направлении отыскания наиболее низких температур, ниже которых наступает смерть организма.

Повидимому, наилучшие результаты должно бы дать комбинированное применение высушивания и умеренно-низкой температуры, но опыты в этом направлении затрудняются технической трудностью получения в течение долгого времени устойчивой умеренно-низкой температуры.

Условия вечномерзлых грунтов, занимающих по подсчету М. И. Сумгина (1927) около 47% территории СССР, позволяют про-

верить, в природных условиях, возможность анабиоза организмов именно при длительном действии умеренно-низких температур. Кроме того, область вечной мерзлоты обладает еще одним важным преимуществом для выяснения возможной длительности анабиотического состояния организмов: почти во всех опытах над анабиозом при низких температурах упускался из вида один чрезвычайно важный момент, а именно, что подвергавшиеся экспериментам объекты по большей части брались из таких природных условий, где они таких низких температур не переносили и к ним не были приспособлены. Хотя эксперименты часто производились над формами, зимующими в условиях умеренного пояса, но к ним обычно применялись воздействия температур значительно более низких, нежели те, к которым они привыкли.

В научной литературе не удалось найти указаний на то, чтобы материал для опытов брался из условий сурового климата, кроме последних опытов Бородина (Borodin, 1934) над аляскинской (водящейся и у нас на Чукотке) рыбой *Dallia pectoralis*, которая будто бы свободно переносит на родине полное замерзание. Замечательно, что опыты именно над этой рыбой дали результаты, отличные от результатов опытов над рыбами умеренного пояса. Именно: при замораживании в течение 40 минут при —20° эти рыбы замерзали совершенно и все же при оттаивании вновь оживали. Есть указания, что температура тела этих рыб бывает значительно выше температуры окружающей среды. При более длительном замораживании они уже не оживали. Необходимо заметить, что эта рыба в своих природных условиях никогда не могла испытывать температуры в —20°, разве только случайно. В водоемах глубже 1 м температура во льду, прикрытом хотя бы тонким снеговым покровом, даже при наличии сильных морозов Чукотки не могла достигать —20°.

Можно утверждать, что организмы, живущие в районе вечной мерзлоты, должны быть особенно хорошо приспособлены к перенесению низких температур и к длительному зимнему замиранию жизни. Небольшие реки и водоемы промерзают там до дна, а мощность слоя вечной мерзлоты там измеряется часто десятками метров, так что все перезимовывающие организмы поневоле должны приспособиться к сохранению жизнеспособности при отрицательных температурах окружающей их среды. Несомненно, весь тепловой баланс этих организмов должен быть несколько иной, нежели у тех же форм умеренного климата. Например, как протекает там зимовка сусликов? Очевидно, расход тепла при отрицательных температурах грунта и длительности холодного периода должен быть у них значительно большим, нежели у их европейских родичей.

Оживление организмов, вмерзающих в лед и в замерзший грунт дна небольших водоемов под Москвой, производилось Болдыревой,

Шарминой и Шмелевой (Зернов, 1928) и дало свыше ста оживших форм животных и растений. При этом температура во льду на глубине 15—43 см не опускалась ниже — 0.9°.

Некоторые опыты в этом направлении производились мною на Сковородинской научно-исследовательской станции Бамлаг'а НКВД в 1934—1936 гг., находящейся при ст. Сковородино (г. Рухлово Зейской области ДВК) Амурской ж. д., в долине р. Б. Невер (левый приток Амура), под 53°58′ северной широты и 123°57′ восточной долготы, на высоте 401 м над уровнем моря. Мощность вечномерзлого слоя точно не определена, но, по дошедшим устным сведениям о старых бурениях, достигает 60 м. Средняя годовая температура воздуха, по многолетним наблюдениям, равна — 4° при минимумах до — 49°. Суровость зимы характеризуется там не столько отдельными резкими минимумами, сколько длительным господством низких температур. Так, средние декадные температуры воздуха в зимние месяцы, на основании 12-летних наблюдений, приводятся в табл. 1.

Таблица 1

Декады	Ноябрь	Декабрь	Январь	Февраль
I	— 13.5	— 24.3	— 28.6	— 25.1
II	— 17.3	— 28.8	— 29.3	— 23.7
III	— 21.3	— 29.1	— 26.5	— 20.6

Небольшой прудик (8×8 м), с наибольшей глубиной в 1.6 м, обычно промерзает до дна, равно как и самое дно, так что получается сплошная мерзлая толща. Однако в зимы 1934/35 и 1935/36 гг. этого полного промерзания не случилось, благодаря рано выпавшему обильному снеговому покрову, так что под прудиком сохранялся слой талого грунта до 1.5 м мощностью. Но в зимы 1932/33 и 1933/34 гг. прудик промерзал до дна, и термометр, помещенный в обсадной трубке на самом его дне в наиболее глубоком месте, показывал в 1932/33 г. следующие температуры:

Таблица 2

Декады	Август 1932 г.	Сентябрь	Октябрь	Ноябрь	Декабрь	Январь 1933 г.	Февраль	Март	Апрель	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь	Ноябрь
I	10.2	7.5	4.2	1.6	0.2	0.0	0.0	— 1.5	— 0.4	— 0.2	0.0	1.7	8.5	8.2	4.7	3.0
II	8.8	6.0	2.9	1.0	0.1	0.0	— 0.2	— 1.4	— 0.2	— 0.1	0.0	4.4	8.9	7.1	4.0	2.8
III	8.5	5.3	2.5	0.4	0.0	0.0	— 0.8	— 1.2	— 0.2	— 0.1	0.2	6.7	8.9	6.3	3.6	1.8

Как видим, несмотря на суровую зиму 1932/33 г. (средняя месячная температура воздуха в декабре 1932 г. была — 30.9°, в январе 1933 г. — 29.7°) и полное промерзание прудика, температура его дна не опускалась ниже — 1.5°, а на глубине 0.5 м под его дном не опу-

скалась ниже —0.1°, так что не удивительно, что этот прудик имеет богатую флору и фауну, в том числе и рыб. Неоднократные пробы оттаивания кусков льда и ила с растениями, взятые как у берегов, так и с промерзшего дна, давали обильный «пáгон» (термин акад. С. А. Зернова, 1928) не только простейших, но и ракообразных, насекомых, моллюсков, червей, мшанок. Как видим, здесь условия зимовки сравнительно мало отличаются от описанных Болдыревой и Зерновым для подмосковных водоемов, но только потому, что сам водоем значительно глубже этих последних.

Иначе обстоит дело с перезимовыванием организмов в мелких лужах, которые быстро промерзают и подвергаются значительно большему охлаждению. Из одной такой лужи на Сковородинской станции неоднократно (27 января, 10 февраля, 18 ноября 1935 г. и 14 января 1936 г.) брались пробы льда с илом у самого берега, в первом случае — не глубже 3 см, в следующих пробах максимально до глубины 12 см. Снежный покров не превышал 20 см. Измерений температуры в этом месте не делалось, но, судя по многолетним наблюдениям на площадке с естественным покровом (снег, трава) находящейся поблизости, минимумы температуры грунтов на глубине 10 см достигали —22.8° (1931 г.), на глубине 40 см —15.8° (1934 г.) и на глубине 80 см —11.8° (1934 г.). 1935 год был для грунтов несколько теплее обычного, и минимальная температура на глубине 40 см была —13.1° (10.I), а на глубине 80 см —9.2° (9.II). Однако средняя температура воздуха в январе 1935 г. была за I декаду —32.4°, за II декаду —32.2°. Это позволяет думать, что в указанной луже, по крайней мере в ее верхних слоях, температуры падали до —20°, а может быть, и ниже. И все же из взятых проб льда и ила, после постепенного оттаивания, появлялись взрослые циклопы, моллюски *Planorbis*, коловратки (типа *Rotifer*), диатомеи. Взрослых *Cladocera* не было, встречались только *ephippia*, через несколько дней дававшие молодых дафний (*Daphnia pulex*). При внесении небольших кусочков льда с вмерзшими в них циклопами непосредственно в теплую лабораторию и быстром последующем оттаивании циклопы не оживали. Точно так же после быстрого замораживания при температуре — 12° циклопов и остракод, долго живших в банке в лаборатории, ни один из них не ожил.

Интересно, что при старых опытах Ределя (Roedel, 1886) *Planorbis* погибали после двухдневного пребывания во льду при —5°, а циклопы — после двухчасового воздействия температуры в —6°. В опытах Коршельта (Korschelt, 1915) циклопы переносили температуру до —9.5°. Как мы видим, многие организмы из районов вечной мерзлоты обладают особой приспособленностью к длительному перенесению в естественных условиях низких температур. Следовало бы поставить специальные опыты с анабиозом именно над такими

организмами, и тогда, наверное, удалось бы получить как новые данные, так и новые выводы.

Попутно следует отметить, что у местных дафний в Сковородине наблюдалась тенденция к откладыванию «зимних» яиц в течение почти всего теплого периода. В 1934 г. *Daphnia pulex* в большой луже близ мерзлотной станции появились впервые 10 мая. 21 июня там отмечено множество самок с *ephippia*, а также множество плавающих *ephippia*, но самцов при лове обнаружить не удалось. Обильные находки самок с *ephippia* были обнаружены в этой луже также в июле, августе и в сентябре, но при этом показалось уже значительное количество самцов. В 20-х числах сентября дафнии уже исчезли, и с 30 сентября водоемы стали замерзать. Таким образом продолжительность жизни дафний измеряется там всего четырьмя с половиной месяцами, и за это время у них было четыре периода откладки «зимних» яиц. Июньский и июльский аналогичные периоды отмечены и для других больших луж, и не только для *Daphnia pulex*, но и для *Scapholeberis*. Интересно, что в нескольких культурах, где воспитывались *Daphnia pulex*, происшедшие от родоначальницы, выведшейся в мае непосредственно из «зимнего» яйца, уже в первом поколении (но не первом помете) 2—5 июня появилось значительное количество ♀ *Daphnia pulex*, но притом не было обнаружено ни одного самца. 4 июля 1934 г. в прудике, описанном выше, была поймана ♀ *Daphnia pulex* с зародышами в выводковой камере; 6 июля она произвела 10 молодых ♀, затем у нее образовался нормальный *ephippium*, хотя самцов не было. 12 июля вечером она снова произвела обильное партеногенетическое потомство, а из изолированных 10 ♀ первого помета одна была с *ephippium*, а остальные 9 — с зародышами в выводковых камерах. Самцов попрежнему там не было. 15 июля из этих самок еще у трех появились *ephippia*, а 20 июля появились 3 ♀ с *ephippia* из следующего партеногенетического поколения, опять-таки в отсутствие самцов. Жаль, что не удалось проследить дальнейшую судьбу этих *ephippia*. Полицикличность дафний давно известна, равно как и случаи образования *ephippia* без оплодотворения, но эта общая картина размножения дафний в условиях резко континентального климата все же указывает на выработавшуюся тенденцию застраховать продолжение рода от возможных климатических неожиданностей.

В районе вечной мерзлоты иногда встречаются остатки погребенных водоемов или болот, причем, благодаря мерзлоте, эти остатки иногда очень хорошо сохраняются. Например, в Центральной Аляске находят пласты льда с более или менее горизонтальной верхней поверхностью и неровной нижней. Во льду этих пластов часто содержатся обильные остатки водной растительности, то распределенные по всей толще льда, то собранные в виде прослоек между более

чистыми ледяными слоями (Maddren, 1905) В лессовидных глинах, образующих прослойку в ископаемых льдах Ново-сибирских островов, по сообщению К. А. Воллосовича, наряду с остатками *Alnus fruticosa* и *Betula nana*, содержатся целые толщи спрессованных трав (М. В. Павлова, 1906).

Чаще встречаются в Арктике погребенные отложения торфа с древесными и растительными остатками, не связанными с современной растительностью тех мест. На это указывают Толль (1897) для постплиоцена Ново-сибирских островов, Лопатин (1897) и Шмидт (1872) для Туруханской тундры. Н. И. Кузнецов (1916) описывает торфяные отложения со стволами деревьев, найденные в Енисейской тундре, Рамзай (1903) — в Канинской тундре; В. Н. Сукачев (1922) дает описание шести торфяников Карской тундры, которые, как показывают их стратиграфия и растительные остатки в торфе, являются ископаемыми торфяниками. На мощные отложения торфов в Арктике мы находим указания у Натгорста (1910, Гренландия) и Андерсона (1910, Шпицберген). Кроме того, имеются работы, посвященные новоземельским торфяникам: В. В. Кудряшева «Торфяники Белушьего полуострова» (1925) и М. М. Юрьева «К вопросу об изучении новоземельских торфяников» (1925).

На острове Б. Ляховском «среди байджерахов на склоне возвышенностей, тянущихся от горы Эми к мысу Шалаурова (Эми-Мурун), мы нашли остатки послетретичного ископаемого леса. Обломки деревьев стояли в почве с корнями и сучьями. Местами на деревьях хорошо сохранилась кора, тут же находились богатые остатки послетретичной озерной растительности, среди которой было найдено много вполне сохранившихся растений между поверхностным гумусом и залежами в нем торфа» (Пинегин, 1932).

Нам самим в апреле 1934 г. случилось в 12 км от ст. Тахтамыгда Амурской ж. д., в долине близ Крестовки, в шурфе, пробитом золотоискателями-старателями, найти в вечной мерзлоте на глубине 5 м довольно мощный пласт с древесными и травянистыми остатками такой сохранности, что высохшая трава доселе не утеряла своей эластичности, а стволы дерева не сгнили и даже не очень потемнели внутри.

Явилась мысль, не могли ли сохранить свою жизнеспособность в вечной мерзлоте споры или яйца тех организмов, которые специально приспособлены для длительного сохранения в наиболее неблагоприятных условиях? Еще Омелянский указывал на возможность сохранения жизнеспособности микроорганизмов в течение тысячелетий, на основании микроскопического исследования тканей березовского мамонта, найденного в 1901 г. В куске привезенного в Ленинград с острова Б. Ляховского льда, взятого из ледяной стены на глубине 16 м от ее верхнего уровня, в расстоянии

70—80 см от дневной поверхности, Б. Л. Исаченко и его ассистент А. А. Егорова обнаружили бактерии, пробудившиеся из длительного анабиотического состояния (Egorowa A., 1931). Необходимо заметить, что при температурах, близких к 0°, во льду происходит передвижение воды в межкристаллических пространствах и в капиллярах, как мы в этом убедились при опытах над замораживанием воды на Сковородинской мерзлотной станции в 1934—1936 гг., так что эти бактерии могли быть и не современны образованию самого ископаемого льда. Интереснее было бы добиться оживления более высокоорганизованных существ, например различных водорослей, может быть, коловраток, ракообразных.

Первые поиски подходящего для этой цели материала в 1934 г. в Рухловском районе ДВК были направлены именно на ископаемые льды. Предполагалось, что можно найти в вечной мерзлоте какой-нибудь погребенный замерзший водоем с остатками растительности, наподобие описанных в Аляске, и тогда попробовать оживить заключенный во льду «пáгон».

Ископаемые льды действительно встречались, но все они оказались не водного, а снегового, фирнового происхождения, так что и не могли содержать «пáгона». Тогда пришлось обратиться непосредственно к мерзлым грунтам, отыскивая в них слои с сохранившимися растительными остатками. Эти поиски производились непосредственно на участке Сковородинской мерзлотной станции в 1934—1936 гг.

Преобладающие грунты этого участка — пылевато-иловатые суглинки, с содержанием глинистых частиц не более 16% и с ничтожным (2—3%) содержанием частиц более 1 мм. Песчаных или даже супесчаных слоев, равно как и галечника, в этом месте не было встречено. Грунты переувлажнены, особенно сильно в вечномерзлых слоях, т. е. глубже 2.5 м, где встречаются ледяные прослойки, толщиной 1—2 см, и более тонкие ледяные жилки. Метрах в 50 от места взятия основных проб, на глубине 2.75 м обнаружены включения сплошного льда до 2.5 м мощностью. Вечномерзлый грунт очень прочен и притом обладает некоторой эластичностью, так что с трудом поддается действию кайла, не рассыпаясь, как скальный грунт. Ножом или топором можно, хотя с значительным усилием, получить из него стружки.

Термический режим грунтов под естественным покровом (трава, снег), изучавшийся 8 лет, в основных чертах таков (табл. 3).

Из этих данных видно, что температуры грунтов в Сковородине, месте с резко выраженными мерзлотными явлениями, вовсе не так низки, как это может казаться, и что на глубине в среднем 2.5 м находится *верхняя граница вечной мерзлоты*; переход через 0° на этой глубине отмечен только в 1933 и 1934 гг. В самой

же вечной мерзлоте, т. е. глубже 2.5 м, температуры держатся совсем недалеко от 0°. Максимальная глубина оттаивания, в среднем 2.5 м, наблюдается в сентябре, а полное промерзание, т. е. смыкание спускающегося сверху зимнего промерзания с вечной мерзлотой, происходит обыкновенно в январе.

Таблица 3

Глубина в метрах	Температура за 8 лет		
	средняя годовая	минимальная	максимальная
0.4	−0.9	−15.9	+14.8
0.8	−0.8	−11.1	+10.7
1.6	−0.7	−5.6	+3.3
2.5	−0.6	−2.8	+0.3
3.2	−0.6	−1.4	−0.2
5.0	−0.7	−1.0	−0.6
10.0	−0.9	−1.0	−0.8
15.0	−1.1	−1.1	−1.1

Пробы брались на участке станции из вечномерзлых слоев (кроме одной), содержащих растительные остатки. К сожалению, такие слои встречались редко, и поэтому ряд проб был взят из прослоек темного ила, в котором не было заметно никаких растительных остатков. Однако, как увидим дальше, и эти пробы дали некоторые результаты. Первая, основная проба была взята из боковой мерзлой стенки шурфа, остальные пробы были взяты из стружек мерзлого грунта, полученных при ручном бурении буром типа Войслова. Во избежание заноса зародышей организмов из верхних слоев почвы края стружки, соприкасавшиеся с буром, обрезались ножом. При бурении в сильный мороз пробы переносились в помещение с температурой, немного выше 0°, через несколько минут после их изъятия из земли, во избежание нового сильного промерзания. Пробы помещались частью в банки, накрытые стеклом, частью в колбы, закрытые ватными тампонами. Все эти сосуды предварительно прокаливались при +110° в термостате. Вода употреблялась дестиллированная, и только в последней серии опытов две пробы были помещены в дважды профильтрованную воду из грунтового источника. Они дали те же результаты, что и параллельные пробы, помещенные в дестиллированную воду. Банки и колбы стояли под стеклянными колпаками и подвергались обследованию предварительно прокаленными пипетками в первый раз только тогда, когда на-глаз уже было заметно появление зелени в воде. Всего было произведено 4 серии опытов и взято 11 проб грунта.

Не весь материал был своевременно определен и законсервирован, так что часть организмов успела выпасть из состава населения некоторых банок раньше, нежели материал был законсервирован. Часть материала в живом состоянии была привезена в Москву и вместе с консервированным материалом была просмотрена проф. К. И. Мейером. Полное определение организмов еще не произведено. Отсутствие бактериальной стерильности при производстве

опытов не позволяет делать каких-либо заключений о бактериальной флоре вечномерзлых грунтов (фиг. 1).

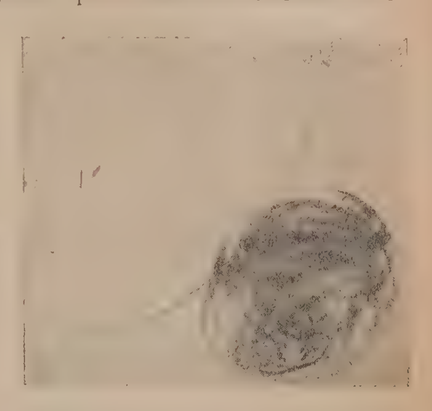
При пробивке шурфа (для опыта с отогреванием мерзлоты при помощи пара) на лугу, прилегающем к станции, на глубине 3.5 м в боковой его стенке, среди коричневатых слоев мерзлого суглинка был обнаружен 8 мая 1934 г. более темный слой мощностью не более 10 см, содержащий потемневшие, но не вполне разложившиеся остатки травянистой растительности. Повидимому, это был оста-



Фиг. 1. Место шурфа в Сковородине, откуда были получены пробы с ракообразными. (Снято через месяц после взятия пробы)

ток торфянистой лужи. Мерзлая стенка шурфа в этом месте была зачищена топором, и из этого слоя в горизонтальном направлении был вырезан кусок грунта, помещенный потом в банку с дистиллированной водой. Оттаивание грунта в это время только началось и не превышало 10 см; температура грунта, по контрольным скважинам, в этот день на глубине 3.5 м была — 1.0°. Уже 23 мая, т. е. через 15 дней, в банке было обнаружено присутствие различных одноклеточных и нитчатых водорослей, а несколько позже — присутствие низших ракообразных из *Cladocera*, именно *Chydorus sphaericus*, которые усиленно размножались (фиг. 2). Эта банка была сохранена в неприкосновенности, и в феврале 1936 г. она была привезена в Москву, вместе с пробами, законсервированными в мае 1935 г. Весь этот материал был просмотрен проф. К. И. Мейером, обнаружившим там, помимо названных ракообразных, ряд водорослей,

а именно (из живого материала) зеленых нитчатых: *Stigeoclonium, Mougeotia, Oedogonium*, из десмидиевых: *Closterium, Cosmarium*, из сине-зеленых: *Oscillatoria, Phormidium*, из диатомовых: *Navicula, Gomphonema*; кроме того, были найдены протонема и зеленые стебельки мха из *Hypnaceae*. В этой банке с законсервированным в мае 1935 г. материалом были дополнительно обнаружены еще сине-зеленые водоросли *Anabaena* и *Lyngbia* (фиг. 3).

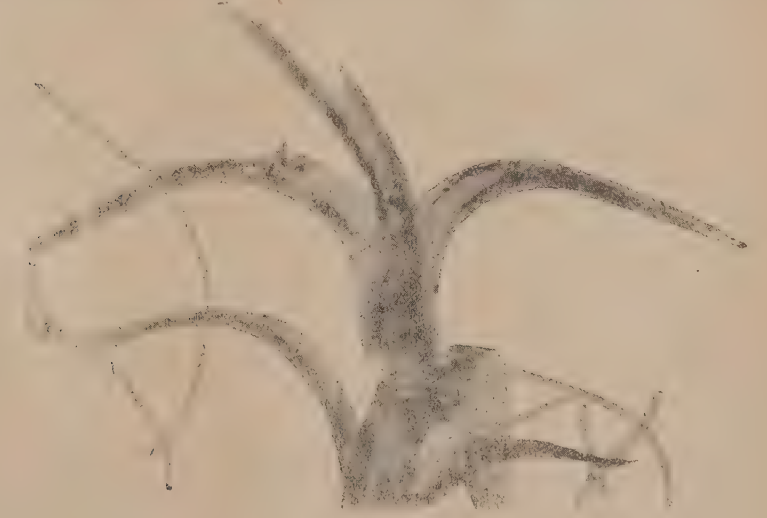


Фиг. 2. Ракообразное *Chydorus sphaericus*, ожившее с глубины 3.5 м. (Снято в живом состоянии)

Здесь мы имеем определенный комплекс организмов **торфяной лужи**. При дальнейших шурфованиях ни разу не удавалось найти пласта с такими обильными растительными остатками.

Вторая серия опытов была поставлена над двумя пробами грунтов, полученных бурением 16 июня 1935 г. на расстоянии 10 м от описанного шурфа из иловатого грунта, с незначительными растительными остатками. Глубина оттаивания грунта в это время достигала 1 м, температура мерзлого грунта была около — 1.0°.

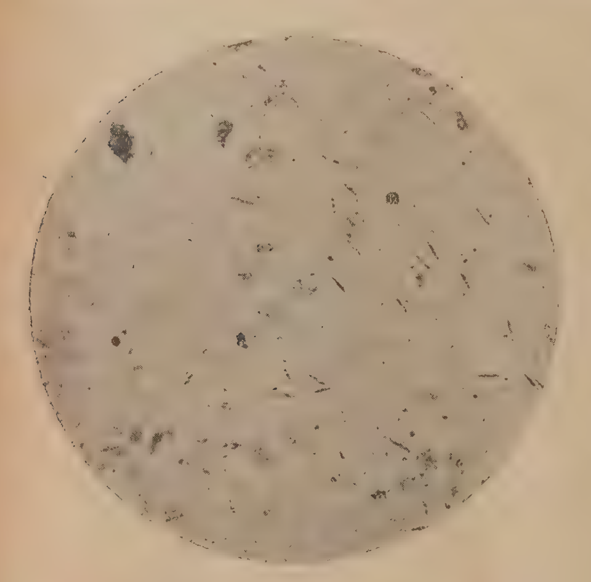
Первая проба была взята не из вечной мерзлоты, а из слоя, лежащего непосредственно над верхней ее границей, с глубины 2.10 м. Максимальные температуры на глубине 2 м, по данным



Фиг. 3. Стебелек мха (из *Hypnaceae*), оживший с глубины 3.5 м. (Снято в живом состоянии)

контрольных скважин, колебались за 8 лет между +0.8 и +2.3. Таким образом, хотя в момент взятия пробы грунт и был мерзлым, он все же всякий год оттаивал, именно на 3 месяца. Уже через 8 дней в этой банке появились одноклеточные и нитчатые водоросли, а именно, по определению в консервированном состоянии: *Anabaena*. *Chroococcus*, *Ulothrix*, *Stigeoclonium*, хламидомонады в пальмеллевидном состоянии, гифы гриба (фиг. 4).

Взятая в то же время другая проба с глубины 2.75 м, т. е. уже из неоттаивающих слоев, дала совершенно иную ожившую флору: *Botrydiopsis*, *Navicula*, *Nitschia*.



Фиг. 4. Диатомовые водоросли с глубины 2.75 м. (Консервированный материал)

Это обстоятельство — совершенно различный состав ожившей флоры из двух слоев, разделенных промежутком всего в 0.65 м, — укрепляет нас в мысли, что при принятых предосторожностях во время взятия проб из бура заноса организмов из верхних слоев можно не опасаться.

Третья серия опытов состояла из двух проб илистого грунта с ничтожными растительными остатками, полученных бурением 22 июля 1935 г., когда оттаивание достигло 1.5 м. В первой пробе с глубины 2.75 м (при температуре —0.7°) уже 2 августа были обнаружены на дне банки довольно значительные зеленые хлопья водорослей, ближе не определенных, так как консервированный материал не сохранился.

Во второй пробе, с глубины 4.25 м, в то же время появились колониальные водоросли, похожие на *Soraster*, быстро выпавшие из состава флоры. В позже законсервированном материале были найдены *Ulothrix* и *Conferva*.

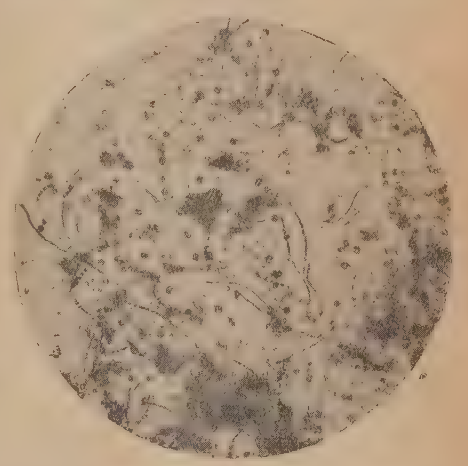
Четвертая серия опытов была поставлена с шестью пробами темного илистого грунта без видимых растительных остатков, взятых при бурении скважины 26 ноября 1935 г. там же. Грунт мерзлый, кроме прослойки мощностью около 20 см на глубине 1.6 м. Через месяц во всех колбах появились водоросли, а именно:

Глубина 3.75 м: Банка А — *Stigeoclonium, Chlorococcum.*
Банка Б — *Stigeoclonium, Chlorococcum, Bumilleria* (вода дважды профильтрованная, не дестиллированная) (фиг. 5 и 6).

Глубина 4.0 м: Банка А — *Conferva, Ulothrix.*
Банка Б — *Ulothrix* (вода дважды профильтрованная, не дестиллированная).

Глубина 4.25 м: Банка А — *Ulothrix* (типа *subtilissima*), *Oedogonium* (немногие нити).
Банка Б — *Ulothrix.*

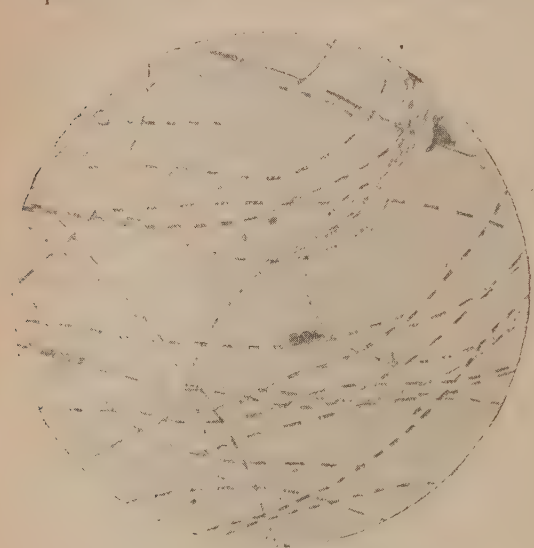
Таким образом 11 проб грунта с глубин 2.10—4.25 м дали до 20 родов оживших водорослей, относящихся к различным группам, кроме того гифы гриба, мох и, что всего замечательнее, один вид из **низших ракообразных**. Все эти роды свойственны частью небольшим водоемам (в частности торфянистым), частью могут жить на самой земле. Формы современные, да и трудно было бы рассчитывать на находку «ископаемых» форм на такой незначительной глу бине.



Фиг. 5. Различные водоросли, ожившие из ила с глубины 3.75 м. (Снято в живом состоянии)

Разумеется, может возникнуть подозрение о возможности заноса этих организмов откуда-нибудь извне, прежде всего из верхних слоев почвы. Необходимо заметить, что пылевато-иловатые суглинки, преобладающие в районе не только ст. Сковородино, но и вообще в ДВК, даже в талом состоянии обладают ничтожной фильтрующей способностью, что было установлено рядом опытов на Сковородинской мерзлотной станции. Но еще важнее то обстоятельство, что вечномерзлые грунты фактически водонепроницаемы, и поэтому возможность занесения хотя бы спор микроорганизмов грунтовыми водами на глубину 3—4 м мерзлых грунтов исключается. Заражение через воздух, воду, посуду, пипетку мало вероятно, потому что, как показывает многолетний опыт, это заражение обычно выражается в появлении какого-либо одного вида микроорганизмов. То же самое следует сказать и о возможности заражения при бурении. Не может быть, чтобы целый комплекс организмов, притом различных на разных глубинах, оказался зане-

сенным извне. Еще более убеждает в этом первый опыт с пробой из шурфа, где ожили 12 родов различных водорослей, мох и ракообразные. Такой согласованный комплекс не мог попасть в банку какими-нибудь случайными путями. В этом же убеждает наконец многократность положительных результатов опытов.



Фиг. 6. Зеленая водоросль *Stigeoclonium* с глубины 3.75 м. (Снято в живом состоянии).

Поэтому позволительно думать, что мы имеем дело действительно с оживанием организмов из мерзлоты. Отсутствие геологического исследования местности и условий отложения там наносов чрезвычайно затрудняет датировку пластов, из которых были взяты пробы. Всего вероятнее, что их древность нужно считать не сотнями, а тысячами лет, может быть, в пределах одной — трех тысяч лет.

Как видим, изучение явлений анабиоза в условиях вечной мерзлоты открывает нам новые перспективы и дает такие возможности, которые недостижимы в обычных местностях. Например, подземная лаборатория на глубине 5 м могла бы давать надежную постоянную температуру около — 0.7° в течение любого времени без применения каких-либо холодильных установок. Опыты же с оживлением организмов из мерзлоты желательно было бы продолжить и развить на основе улучшенной методики и с пробами, взятыми из более глубоких слоев. Не исключена возможность, что из них могут ожить формы, уже отличающиеся от ныне живущих если не вообще на земном шаре, то по крайней мере от живущих ныне в той местности.

Комитет вечной мерзлоты.
Академия Наук СССР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rahm G., Einwirkung sehr niedriger Temperaturen auf die Moosfauna. Kryobiologie. Vers. Wis. Nat. Afdel. K. Akad Wet. Amsterdam, XXIX, 1921.
2. Rahm G., Zeitschr. f. allgem. Physiol., Bd. XX, H. 1, 1923.
3. Becquerel P., Rèvue Gen. Sc. pures et appliquées, 25 année, № 11, 1914.
4. Becquerel P., La reviviscence de plantules desséćhes soumises aux actions du vide et de trés basses tempèratures. C. R. Ac. Sc. Paris, v. 194, 1932.
5. Сахаров Н. Л., К изучению холодостойкости насекомых. Журнал опытной агрономии Юго-Вост., т. VI, вып. 2, Саратов, 1928.
6. Калабухов Н. И., Зоологический журнал, т. XIV, вып. 1, 1935.

7. Шмидт П. Ю., Анабиоз (подробная сводка и указатель литературы), изд. 2-е дополненное, Биомедгиз, 1935.
8. Becquerel P., Ann. Sc. Nat. Botan., 9 ser., v. 5, 1907.
9. Сумгин М. И., Вечная мерзлота почвы в пределах СССР, Владивосток, 192
10. Borodin N., Zool. Jahrb., Abt. allg. Zool., Bd. 53, 1934.
11. Зернов С. А., Русский гидробиологический журнал, т. VII, № 1—2, 1928.
12. Roedel H., Zschr. f. Naturwiss. Halle, LIX, 1886.
13. Korschelt E., Zool. Anz., Bd. XLV, 1915.
14. Maddren, Smithsonian exploration in Alaska. U. S. Geol. Surv. Bull., 263, 1905.
15. Павлова М. В., Записки Академии Наук, серия VIII по Физико-математическому отделению, т. XX, № 1, 1906.
16. Григорьев А. А., сборник «Вечная мерзлота», Комиссия по изучению вечной мерзлоты Академии Наук СССР, 1931.
17. Зубков А. И., Труды Полярной комиссии Академии Наук СССР, вып. 5, 1931.
18. Пинегин, Труды Совета по изучению производительных сил, Серия Якутская вып. 7, 1932.
19. Egorowa A., Über Bacterien im fossilen Eis. Arktis, Bd. 1—2, 1931.
20. Фрицман Э. Х., Природа воды. Тяжелая вода, ОНТИ, 1935.

P. N. KAPTEREV. ANABIOSIS IN THE CONDITIONS OF PERMANENT CONGELATION

SUMMARY

Organisms living in the region of permanent congelation must be particularly well adapted to stand low temperatures and the prolonged suspension of life in winter. A great number of animals hibernate there in frozen ground (for instance rainworms, spermophiles (dopher) and in water receptacles that freeze to the very bottom (mollusks, crustaceae, larvae of insects, fishes). During the experiments carried out in 1934 - 1936 there were several cases where mollusks *Planorbis* that had frozen into the ice of a shallow pool and cyclops that had undergone a temperature of not less than —20° were brought back to life.

These experiments took place in 1934 -1936 at the Skovorodino Station or Scientific Research on Congelation, located near the station Skovorodino of the Amur rail-way, 53°58′ North latitude and 123°57′ East longitude at a height of 401 m above sea level. The average temperature of the air was -4°, with a minimum —49° C. The temperature of the soil under the natural vegetative cover (grass, snow) during an 8-year period of observation did not sink below —15.9° at the depth of 0.4 m, or -5.2° at the depth of 1.6 m, or — 1.5° at the depth of 3.2 m. At the depth of 5 m the temperature varied from —0.6° to —1.0°. The average annual temperature at the depth from 0.4 to 5 m was found to be within the limits—0.7° and — 0.9°. The soil was argillaceous with an excessive content of moisture. The depth of maximal thawing was 2.5 m (in September). The thickness of the permanently frozen layer was, evidently, not less than 60 m.

The first set of soil samples with abundant vegetative remains was taken from the frozen wall of a bore on May 8th 1934. After it had been placed in distilled water, a number of reanimated organisms were

found in the same, viz. green algae: *Stigeoclonium, Mougeotia, Oedogonium;* desmids: *Closterium, Cosmarium;* the bluishgreen algae: *Anabaena, Lyngbia, Oscillatoria, Phormidium;* diatoms: *Navicula, Gomphonema;* further the protonema and the small green stalks of moss of the *Hypnaceae,* as well as a crustacean of *Cladocera*: *Chydorus sphaericus.* Here we have a definite complex of the peat bog.

Further samples were taken from the layers of a dark coloured slime containing but inconsiderable vegetative remains or not containing any at all. The samples were obtained by boring; the soil was cut with a knife at the places of contact with the auger and placed in distilled water in jars and retorts ignited at +110° and than closed with glass or cotton wool plugs.

The second set of samples taken on June 16th 1935 from a depth of 2.10 m (i. e. from a thawing layer, above the limit of permanent congelation) gave *Anabaena, Chroococcus, Ulothrix, Stigeoclonium,* the palmella state of chlamydomonads and hyphae of fungi. From a depth of 2.75 m (already within the limits of permanent congelation) there were taken and reanimated: *Botrydiopsis, Navicula, Nitschia.*

The third set obtained by boring on July 22nd 1935, from slimy soil with very few vegetative remains from a depth of 4.25 m, furnished firstly colonial algae of the type of *Soraster* and, secondly, *Ulothrix* and *Conferva.*

The fourth — six samples, obtained by boring on November 26th 1935 from slimy soil without any visible vegetative remains, furnished: in two samples from a depth of 3.75 m — *Stigeoclonium, Chlorococcum, Bumilleria,* in two following samples from a depth of 4 m — *Conferva* and *Ulothrix*, and in the last two samples from a depth of 4.25 m — *Ulothrix* and *Oedogonium.*

In this way, there were obtained from 11 samples of soil, taken at depths varying from 2.10 to 4.25 m, 20 genera of algae belonging to various groups, hyphae of fungi, moss and one species of the lowest form of crustaceans. They are contemporary and cosmopolitan in form, but no exact determination of the same has been made up to now. In view of the absence of bacterial sterility during the experiments it was not possible to draw any conclusions in regard to the bacterial flora of permanently frozen soils. The lack of geological investigation of the locality made it extremely difficult to determine the age of the strata from which the samples were taken. It is most probable that their age must be counted not by hundreds, but by thousands of years, perhaps within the limits of one - three thousand years. It would be desirable to continue and develop these experiments on the basis of improved methods and with samples taken from deeper layers. It is not impossible that from these samples forms could be brought back to life which would prove to be different from the now living forms, at least from the forms now living in that locality.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADEMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

Д. НОВОГРУДСКИЙ, Е. КОНОНЕНКО и А. РЫБАЛКИНА

ИЗМЕНЕНИЯ БАКТЕРИЙ ПОСЛЕ ВНЕСЕНИЯ ИХ В ПОЧВУ

(*Представлено академиком* **Г. А. Надсоном**)

Для выяснения вопроса, как изменяются бактерии после внесения их в почву, живые бактерии наносились на поверхность маленьких стекол и, вместе с последними, закапывались в изучаемые почвы на различные сроки. Этим путем установлены особенности в поведении трех видов бактерий (*B mycoides, Azotobacter chroococcum* и *Rhizobium leguminosarum*) в стерилизованной и нестерилизованной почве, а также изменения этих бактерий, происходящие в этих почвах.

Как изменяются бактерии после внесения их в почву? На этот как будто простой вопрос очень трудно ответить.

Мы изучаем микроорганизмы почвы, главным образом, на искусственных питательных средах. Между такими средами и почвой, как местообитанием почвенных микробов, нет ничего общего. Поэтому понятно, почему столь большое значение приобретает вопрос о том, можно ли, и в какой мере, на основании изучения микробов на искусственных средах в лабораторных условиях судить о деятельности этих организмов в почве [1].

О жизнедеятельности многих почвенных микробов мы имеем лишь односторонние и схематические представления. Они иногда не более точны, чем заключения о жизни животных на основании их изучения в клетках зоологического сада. Например, на искусственных пептонных средах спорообразующие аэробные бактерии — *B. mycoides, B. mesentericus, B. megatherium* и др. — сильно аммонифицируют. А в почве? Представление, что в почве они обязательно должны выполнять ту же функцию, не только не подтверждено, но некоторыми даже решительно оспаривается (Conn, 1923) [2]. Такие денитрификаторы, как

[1] Этот вопрос не раз поднимался различными исследователями, особенно С. Н. Виноградским. Одна из последних статей Виноградского начинается с раздела, названного «Сахарный или почвенный азотобактер?» (W i n o g r a d s k y S., Soil Science, 40, 1935, 59).

[2] Иоффе и Кон, изучавшие естественную микрофлору различных почв при помощи прямого метода, нашли, что спорообразующие аэробные палочки находятся в почвах, в обычных условиях, т о л ь к о в состоянии спор [I o f f e, C o n n, N. Y. State Agric. Exp. Station, Techn. Bull. № 97, 1923].

B. fluorescens (некоторые расы), *B. Stutzeri*, *B. denitrofluorescens*, на искусственных средах бурно восстанавливают нитраты до свободного азота. Но они же способны развиваться за счет аммиачного азота, аминокислот, пептонов. Какие же процессы они вызывают в почве? Никакое изучение чистых культур на искусственных средах не ответит на этот вопрос [1]. Азотобактер — типичный организм, усваивающий атмосферный азот. А какова его истинная роль в почве? Как трудно ответить на этот вопрос, указано в уже упомянутой работе Виноградского.

Такие же неясности характеризуют наши знания о морфологии бактерий. Все, что мы знаем и что стало для нас привычным, — это морфологические состояния микробов на различных искусственных средах. Но что происходит с ними в почве? Сохраняют ли они свою обычную для нас форму или изменяются? Этого мы не знаем.

Все это объясняет, почему каждый новый успех и переход от изучения просто почвенных бактерий к изучению бактерий в почве приобретает большое значение [2].

В настоящем исследовании излагаются результаты сравнительного изучения в почве трех бактерий: *B. mycoides*, *Azotobacter chroococcum* и *Rhizobium leguminosarum*.

Если изложенные выше исходные идеи этого исследования не новы, то методика и полученные результаты представляют известный интерес.

1. Методика

Основная трудность изучения бактерий в почвах заключается в том, что мы не умеем внести изучаемую бактерию в почву и спустя известное время вновь ее оттуда извлечь и изучить под микроскопом. Методы прямой бактериоскопии (Кона, Виноградского, Росси, Холодного) открыли изумительно интересные картины микрофлоры почвы. Но эти препараты походят на «слепые» карты каких-то неведомых и таинственных стран. Мы в большинстве случаев не знаем и не можем знать, какие организмы у нас перед глазами и в каком состоянии они были до момента наблюдения. Известное облегчение последней трудности приносит метод проращивания препаратов (Разумов), но этот метод не дает никакой уверенности, когда требуется определенно знать, что мы день за днем наблюдаем один

---

[1] Огромную роль в жизни почвенных микробов играет конкуренция за пищевые и энергетические вещества. Вследствие этого микроорганизмы в условиях почвы находят значительно более тесные рамки, в пределах которых возможно их развитие. Физиологическая деятельность микроорганизмов в условиях почвы может поэтому оказаться значительно более специализированной, чем это вытекает из изучения их в чистых культурах [Rommel, Centr. f. Bakt., II, **93**, 1936, 442].

[2] Между прочим, изучение судьбы вносимых в почву бактерий может представить интерес для характеристики различных препаратов нитрагина. Ведь с того момента, как клубеньковые бактерии внесены в почву, мы почти целиком теряем возможность следить за их превращениями и их судьбой.

и тот же организм. Кроме того, само «проращивание» требует искусственной питательной среды.

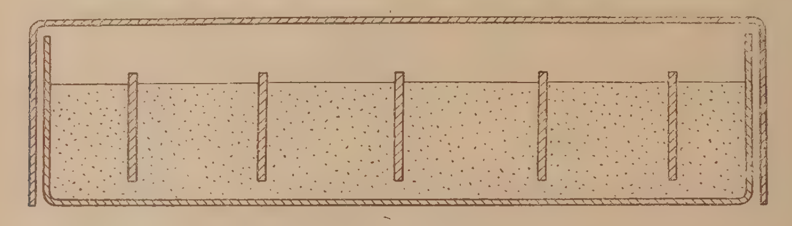
Мы решили обойти указанные трудности следующим путем. Не ждать, пока бактерии почвы (при методе Росси-Холодного) сами начнут прикрепляться к поверхности заложенного в почву стекла, а наносить на стекла определенные виды бактерий, опускать эти стекла в почву и, когда нам желательно бактерии эти рассмотреть, вместе со стеклом извлекать их из почвы и класть на столик микроскопа. Такой путь сам собою напрашивался. Росси и Холодный сначала закапывали стекла в почву; Холодный, кроме того, вносил в почву вместе со стеклом небольшие куски фильтровальной бумаги; Земенцкая перед опусканием стекла в почву наносила на его поверхность различные органические вещества. Совершенно естественным казалось продолжить эти приемы в направлении нанесения на стекло определенных бактерий, чтобы получить возможность более детально, чем это возможно было до сих пор, изучить их судьбу в условиях почвы.

Мы хорошо знаем, что такая методика имеет ряд недостатков. Во-первых, при опускании бактерий вместе со стеклом в почву само расположение бактерий и их густота весьма сильно разнятся от того, что мы можем ожидать в естественных условиях; весьма возможно, что эти обстоятельства вызывают в судьбе внесенных таким путем в почву бактерий ряд осложнений. Во-вторых, мы всегда должны считаться с тем, что, вынимая из почвы стекло с бактериями, мы извлекаем не все бывшие на нем организмы, а только часть их. Определенная часть бактерий может остаться в почве. В-третьих, при нанесении мазков бактерий на стекло часть клеток может пострадать от тех или иных причин, в частности — от подсыхания, и таким образом мы будем иметь дело не с вполне нормальными организмами. Мы перечислили здесь важнейшие недостатки метода внесения в почву живых бактериальных мазков. Бесспорно, все перечисленные обстоятельства могут иметь большое значение. И все же мы решились начать при помощи этого метода изучение судьбы бактерий после внесения их в почву. Мы исходили из того, что определенные недостатки присущи всяким другим методам исследования. Важно лишь помнить о них и, где это необходимо, при сопоставлении полученных данных их учитывать.

После этих общих замечаний перейдем к изложению подробностей нашей методики.

Все опыты производились со среднеоподзоленной почвой картофельного поля (ст. Красково Моск.-Каз. ж. д.), образцы которой были взяты в ноябре 1935 г. после уборки урожая. 600—700 г свежевзятой, просеянной почвы помещались в чашку Коха (диаметром 15 см) и увлажнялись водопроводной водою до 50% максимальной влагоем-

кости. Стекла размером в $^1/_5$ нормального предметного стекла (15×25 мм) выдерживались сутки в хромовой смеси, после чего промывались в проточной воде 4—6 часов. После высушивания стекла на воздухе поперек всего стекла полоской в 3—5 мм наносились исследуемые бактерии. Это лучше всего производить следующим образом. Засевают нужные виды бактерий на свежеприготовленный скошенный агар, образующий много конденсационной воды. Когда бактерии развились, берут одно или несколько ушков конденсационной жидкости, которые размазывают по стеклу. Из культур на подсушенных питательных средах трудно получить ровные бактериальные мазки. *B. mycoides* наносился из 24-часовой культуры на обыкновенном мясопептонном агаре, *Azotobacter chroococcum* — из одно- или двухсуточной культуры на агаре Ashby, *Rhizobium leguminosarum* — из двухсуточной культуры на агаре с бобовым отваром или с дрожжевой водой.



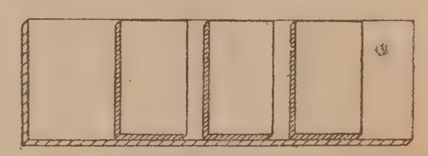
Фиг. 1. Схематическое изображение чашки со вставленными в почву стеклами

После приготовления мазка шпателем делался вертикальный разрез в почве, а стекло осторожно прикладывалось мазком к поверхности разреза, а с другой стороны стекла к нему плотно прижимали почву. Небольшая часть края стекла оставалась торчать над поверхностью почвы (фиг. 1). Кроме таких стекол с бактериями, в чашки закладывались также контрольные «пустые» стекла. В одну чашку указанных размеров можно было свободно заложить около 30—35 стекол. Чашки со вставленными в почву стеклами закрывались крышками и держались при комнатной температуре. Ежедневные взвешивания показали, что изменения влажности были очень невелики: за день вес чашек уменьшался на 1—2 г, и добавлялось соответствующее количество воды.

Сроки снятия стекол были различны в разных опытах. При выемке стекла из почвы требуется осторожность, чтобы не стереть мазок. Вынутое и подсушенное на воздухе стекло фиксировалось (парами осмиевой кислоты или в пламени — при обоих способах различий не обнаружено). Если на стекле оставались крупные комочки почвы, то препарат отмывался в воде. Препараты окрашивались 1% эритрозином в 5% карболовой воде в течение 15—20 минут. Окрашенные

и просушенные стекла прикреплялись канадским бальзамом по нескольку штук на одно предметное стекло и так сохранялись (фиг. 2).

К этому общему описанию необходимо добавить, что в отдельных опытах, в зависимости от обстоятельств, методика эта или дополнялась другими приемами исследования, или частично видоизменялась. Так, например, в первых опытах стекла с бактериями закапывались в стерилизованную в течение часа почву при 110°. В дальнейшем от этого пришлось отказаться по причинам, которые будут ниже изложены. В других опытах мы закапывали стекла в одни чашки с естественной почвой без всяких добавок и, кроме того, в другие чашки с тою же почвой, к которой мы добавляли $CaCO_3$, и в третьи чашки, к почве которых добавлялось $CaCO_3$ и K_2HPO_4. В ходе работы пришлось видоизменять также самый способ нанесения бактерий на поверхность стекла. Одно время нам казалось правильным наносить на стекло капли водных суспензий изучаемых бактерий и после того, как они только начинали подсыхать, закапывать такие стекла в почву. От этого приема мы также отказались, очень скоро убедившись, что при таких условиях бактериальные клетки весьма сильно страдают. Наилучшие результаты мы получали при нанесении на стекло бактериальной слизи. В ряде случаев мы одновременно вынимали из почвы по два стекла. Одно из них фиксировалось и окрашивалось описанным выше образом, а на другом — бактерии рассматривались живыми в капельке воды. Наконец, очень часто при рассматривании под микроскопом различных форм бактериальных клеток важно было решать, имеем ли мы перед собою жизнеспособные образования или нет. Чтобы ответить на этот вопрос, мы вынимали из почвы еще стеклышки, не фиксировали их, а наносили на их поверхность 0.2% мясопептонный агар или безазотистый агар Ashby. Такие стеклышки заключались в стеклянные чашки, выложенные на дне влажной промокательной бумагой, и ставились на 24 часа при 25°. После этого они фиксировались в парах осмиевой кислоты и окрашивались обычным образом эритрозином. При микроскопировании таких стекол можно видеть, какие формы клеток размножились и какие уже утратили свою жизнеспособность.



Фиг. 2. Способ прикрепления стекол с препаратами к предметному стеклу

Наконец, несколько слов о *контролях*. Когда мы изучаем под микроскопом извлеченные из почвы стекла с бактериями, мы наблюдаем двоякого рода явления. С одной стороны, бактерии, внесенные на поверхности стекла в почву, подвергаются различным последовательным изменениям. С другой стороны, различные микроорганизмы почвы, бактерии, грибы, актиномицеты, простейшие, привле-

каются из почвы к тем местам стекла, где находятся внесенные бактерии. Поэтому контрольные стекла, которые мы ставили в каждом опыте, преследовали различные цели. Чтобы решить вопрос, действительно ли те изменения бактерий, которые наблюдают на закапываемых в почву стеклах, вызываются пребыванием этих бактерий в почве, а не оттого, например, что они находятся в условиях большей влажности, мы в каждом опыте ряд контрольных стекол с нанесенными на них бактериями не закапывали в почву, а оставляли во влажной камере на те же сроки и при той же температуре. Каждый раз, когда мы вынимали из почвы и микроскопировали стекло с бактериями, мы такое же стекло брали из влажной камеры и точно таким же образом его обрабатывали. Как мы увидим из дальнейшего, изменения бактерий во влажной камере и изменения тех же бактерий в почве — явления совершенно различные. Чтобы осветить вопрос, действительно ли те посторонние микроорганизмы, которые в большом количестве появляются в местах стекла, на которые мы наносили исследуемые бактерии, находятся в какой-либо зависимости от наличия скоплений последних, — мы каждый раз закапывали в почву также и пустые, чистые стекла и сравнивали микроорганизмы этих стекол с микроорганизмами «бактеризованных стекол».

Тщательное изучение контрольных стекол и сравнение их со стеклами с бактериями давало возможность наиболее объективно оценивать те картины, которые наблюдались на последних.

2. Изменения бактерий в стерилизованной почве

Вначале мы предполагали, что в условиях стерилизованной почвы изменения бактерий удастся проследить наиболее легко и, так сказать, в чистом виде. Эти предположения совершенно не оправдались.

Почва стерилизовалась в течение часа при 120° и влажность доводилась до 60% от наибольшей влагоемкости.

Bacillus mycoides. Для каждого, кто знает *B. mycoides* по тем формам, которые он образует на искусственных, содержащих пептон, средах, изменения этого микроба в стерилизованной почве являются совершенно неожиданными.

Уже через 24 часа начинается разрушение значительного количества клеток (вклейка табл. I, *1*). Разрушающиеся и деформированные клетки легко узнаются по различным признакам. Форма их становится часто утолщенной и шарообразной. Содержимое их делается зернистым и красится эритрозином чрезвычайно слабо. Внутри клеток некоторые участки вовсе не окрашиваются. Кроме таких разрушающихся клеток, мы видим на стекле нормального вида палочки с гомогенным содержимым. Фиг. 3 изображает инволюционные формы *B. mycoides* и различные стадии разрушения его клеток.

Через двое суток мы опять находим на стекле разрушающиеся и вполне нормальные клетки. Первые имеют уже описанный вид. Вто-



Фиг. 3. Инволюционные формы клеток и разрушающиеся клетки *Bacillus mycoides*

рые, т. е. нормальные клетки образуют кое-где длинные цепочки и целые пряди типичных нитей *B. mycoides* (табл. I, *2*). В следующие дни количество типичных клеток все более и более уменьшается.

Цепочки и пряди, состоящие из нитей, совершенно исчезают. Зато в значительной степени увеличиваются клетки разрушающиеся.

Приблизительно начиная с 5-х суток, наблюдается массовое разрушение клеток (табл. I, *3*). На стеклах можно видеть все последовательные стадии этого процесса, вплоть до превращения клетки в маленькое скопление зернистого материала, иногда сохраняющего еще на стекле внешние очертания клетки. Создается впечатление, что у одних клеток сначала разрушается оболочка, а у других — внутреннее содержимое. Клетки последнего рода имеют вид пустых «*Schattenzellen*».

Картина не изменяется и на 10-е и 15-е сутки. Среди огромных скоплений разрушающихся клеток лишь очень редко можно встретить свободно лежащую спору или спору, заключенную в клетку. Надо отметить одну особенность клеток *B. mycoides* в стерилизованной и увлажненной почве: у них почти полностью отсутствует спорообразование. В одном опыте, продолжавшемся 8 суток, в котором влажность почвы почти не подвергалась колебаниям, образования спор не было ни разу обнаружено. В другом 15-дневном опыте почва во второй половине опыта подсохла. В этом опыте были обнаружены редкие, единичные споры.

Интересно сравнить описанные картины разрушения клеток *B. mycoides* в стерилизованной почве с превращениями этих клеток, находящихся просто во влажной камере. На мазках, хранящихся во влажной камере, через 1—2 суток начинается процесс разрушения клеток, протекающий в разных случаях с различной интенсивностью. После 5 суток нормальных клеток на стекле уже совершенно не остается. В дальнейшем на стеклах можно видеть только резко очерченные, контурно окрашенные зерна и мелкую зернистость (табл. I, *4*). Приблизительно к 11 суткам на стеклах уже совершенно исчезают бактериальные клетки. Таким образом в обоих случаях, т. е. и на стеклах, введенных в стерилизованную почву, и на тех, которые хранились во влажной камере, мы наблюдаем процесс прогрессирующего разрушения клеток бактерий. Мы увидим дальше, что иначе обстоит дело с нестерилизованной почвой.

Подведем краткие итоги. В стерилизованном подзоле клетки *B. mycoides* в огромной своей массе погибают, и только единичные из них иногда образуют споры[1].

Azotobacter chroococcum. Азотобактер вносился в ту же подзолистую почву, которая служила для опытов с *B. mycoides*. Водная

[1] После оформления настоящей работы мы ознакомились с исследованием Майера (Meyer R., Archiv für Mikrobiologie, **6**, 1935, 461), который иным путем пришел к такому же выводу. В огородную почву (опытного поля Института сельскохозяйственной бактериологии Геттингенского университета), стерилизованную двукратным нагреванием в автоклаве при 120°, Майер вносил суспензии различных

вытяжка из этой почвы (в отношении 1:1) имела pH = 5.9, и почва эта среди своей естественной микрофлоры не содержала азотобактера. Стекла, покрытые *A. chroococcum*, вынутые после 24-часового пребывания в такой стерильной почве, обнаруживали чрезвычайное разнообразие инволюционных форм клеток азотобактера. Одни клетки становились чрезвычайно крупными, овальными и раздутыми. Протоплазма их деформировалась, а оболочки приобретали различные неровности. Другие клетки находились в процессе разрушения. Их содержимое или вовсе не окрашивалось, или красилось только отдельными участками. Через 2 суток количество и разнообразие инволюционных форм еще увеличилось. Появляются гигантские формы клеток, колбовидные, с оттянутыми и часто загнутыми концами, а также чрезвычайно длинные клетки в виде жгутов до 30–40 μ длины (табл. I, *5*, *6*). В последующие дни препараты становятся более однообразными, повидимому потому, что инволюционные клетки погибают и распадаются. Уже на 7-е сутки основная масса клеток по форме целиком напоминает нормальные «агаровые» клетки азотобактера, только большинство их находится в состоянии распада (вклейка табл. II, *7*). Начиная с 9-х суток и до 20-х мы видим на стеклах почти только разрушающиеся клетки азотобактера. Со временем количество клеток на стеклах уменьшается, и на 30-й день остаются только одиночные клетки.

Сравним теперь изменения клеток азотобактера, происходящие на стеклах в стерильной почве, с теми изменениями, которые происходят на таких же стеклах, но находящихся в насыщенной водяными парами атмосфере. Как и в предыдущем случае с *B. mycoides*, можно было заметить довольно далеко идущие совпадения. После одного дня пребывания во влажной камере на стеклах, наряду с обычными формами азотобактера, появляется много инволюционных форм (табл. II, *8*). Но их значительно меньше, чем на стеклах, находящихся в стерилизованной почве. Через два дня инволюционные формы исчезают, и препараты становятся более однообразными. На препаратах мы видим тогда клетки азотобактера нормального вида, овальные и хорошо красящиеся и наряду с ними очень большое количество плохо окрашивающихся, иногда отчетливо деформированных, разрушающихся клеток. На 15—20-й день количество нормальных клеток составляет приблизительно процентов десять (табл. II, *9*). К 30-му дню почти все клетки разрушены.

Резюмируем. В стерилизованном подзоле клетки азотобактера в первые дни образуют множество инволюционных форм или сразу

бактерий и дальше следил за их судьбой при помощи стекол обрастания по методу Холодного. Оказалось, что некоторые бактерии — *B. mycoides*, *B. subtilis* — в стерилизованной почве не развиваются, а внесенные в такую почву клетки — дегенерируют. Таким образом наши наблюдения над *B. mycoides* полностью совпадают с наблюдениями Майера.

разрушаются без образования последних. С течением времени разрушение клеток все больше прогрессирует и, в конце концов, почти все клетки подвергаются распаду[1].

Rhizobium leguminosarum. В ту же стерилизованную почву вносилась разводка клубеньковых бактерий гороха из 3-суточной культуры на бобовом отваре[2]. Внесенные в почву бактерии имели вид коротких палочек, явственно зернистой структуры. В большинстве случаев в каждой палочке можно было различить два зерновидных тельца. Некоторые палочки, повидимому, уже распались, и зернышки, составляющие их содержимое, лежали свободно на препарате (табл. II, *10*). Через день после пребывания стекла в стерилизованной почве палочки клубеньковых заметно изменились. Многие клетки утратили зернистое строение. Окрашиваемость их стала интенсивнее. Некоторые из них стали в два-три раза длиннее, повидимому вследствие происшедшего деления (табл. II, *11*). Такие удлиненные формы нередко состояли из многих отдельных зерновидных телец. В следующие дни существенных изменений клеток почти не замечалось, может быть потому, что незначительная величина их сильно затрудняет наблюдения. Через 6 дней можно было установить, что часть находящихся на стекле бактерий ничем не отличается от клеток, имевшихся в начале опыта. Только по сравнению с контрольными стеклами из влажной камеры эти клетки заметно интенсивнее красились. Некоторые из бактерий имели не зернистое, а совершенно гомогенное содержимое, что, вероятно, указывает на то, что это недавно разделившиеся клетки (табл. II, *12*). Кроме этих нормальных форм, имелись на стекле зернистые клетки, лежащие среди бактериального детрита (вклейка табл. III, *13*). Это скорее всего разрушающиеся клетки *Rhizobium*. Еще более интересную картину представляли 10-дневные стекла. Там, где на стекло были нанесены стареющие клубеньковые бактерии, мы видели прекрасно развитые группы мелких и более длинных молодых с совершенно гомогенным содержимым клеток. Кроме таких клеток, на тех же стеклах всегда встречались более или менее значительные группы старых клеток, имевших зернистую структуру. В это же время на контрольных стеклах из влажной камеры мы ничего подобного ни в одном случае не видели. Там все бактерии имели совершенно такой же вид, какой они имели с самого начала. Даже более того, повидимому старение клеток продвигалось дальше, что можно было заключить по тому.

---

[1] В ранее упомянутом исследовании Майера *Azotobacter* развивался в стерилизованной огородной почве. Несоответствие наших результатов с наблюдениями Майера можно объяснить тем, что в различных почвах *Azotobacter* реагирует неодинаково.

[2] Эта культура была получена от Работновой и подробности о ней приведены в ее статье (Микробиология, **5**, 1936).

что отдельные палочки рассыпались на составляющие их зерна и окрашиваемость всех клеток прогрессивно уменьшалась.

Итак, если *B. mycoides* и *Az. chroococcum* в стерилизованном подзоле находят крайне неблагоприятные условия для своего существования, нельзя того же сказать про *Rhizobium leguminosarum*. Бактерия эта в нашем стерилизованном подзоле не только не подвергалась быстрому разрушению, но наоборот, даже размножалась.

3. Изменения бактерий в естественной нестерилизованной почве

Стерилизованная почва в очень многих отношениях отличается от почвы нестерилизованной. Хотя мы недостаточно знаем, в чем именно заключаются эти изменения и каково их количественное выражение, все же, бесспорно, эти изменения чрезвычайно глубоки. Уже один переход многих почвенных коллоидов под влиянием высокой температуры в состояние гелей вызывает нарушение физико-химических особенностей почвы. Достаточно указать, например, что при столь непродолжительной стерилизации (один час при 120°), какая нами применялась, наш подзол изменял капиллярную влагоемкость от 29 до 19—20—21%. Поэтому казалось необходимым от опытов в стерилизованной почве перейти к таким же опытам, но в почве естественной, нестерилизованной.

B. mycoides. Изменения *B. mycoides* в естественной нестерильной почве ничего общего не имеют с теми изменениями, которые мы описывали на предыдущих страницах.

Контрольные мазки, хранившиеся во влажной камере, дали точное повторение картины предыдущего опыта. Громадное большинство клеток через 24 часа находилось в состоянии разрушения. Такие стекла заполнены контурно окрашенными тельцами и зернистостью. Через 48 часов неповрежденных клеток на стеклах уже не было. Мазки состояли сплошь из продуктов распада. В дальнейшем количество последних уменьшалось, причем постепенно исчезали и контурно окрашенные тельца и зернистость.

Рассмотрим теперь состояние того же *B. mycoides*, растущего на мясопептонном агаре. Через 24 часа клетки из агаровой культуры при покраске эритрозином обнаруживают оригинальный вид: они соединены в длинные цепочки, интенсивно окрашены только по полюсам и почти не окрашены в центральной части. Гомогенно окрашенные клетки встречаются очень редко (табл. III, *14*). Через 48 часов характер клеток сохранился таким же. Надо заметить, что этот штамм *B. mycoides* («Зап») очень поздно и скудно образовывал споры.

Совсем другую картину представляет *B. mycoides* в нормальной почве. Большинство клеток на стеклах длиннее и окрашиваются

равномерно и интенсивно. Многие из них образуют довольно длинные цепочки, что указывает на нормальное деление клеток. Особенно изящный и нормальный вид имеют клетки, прилегающие к почвенным частицам. Кроме того, на стеклах видны и разрушающиеся клетки, еще не утратившие свои очертания. Попадаются контурно окрашенные тельца и зернистость (табл. III, *15*).

В дальнейшем различия между *B. mycoides* на агаре и в почве становятся еще значительнее.

На мясопептонном агаре *B. mycoides* на 7-е сутки образует очень редкие споры. Надо тщательно рассматривать препараты, чтобы их обнаружить (табл. III, *16*). Большая часть клеток очень тонкие, сильно деформированы и слабо красятся. На стеклах в почве уже на 4-е сутки идет, с одной стороны, массовое разрушение клеток (табл. I, *4*), особенно в местах их больших скоплений, и, с другой,— массовое спорообразование. В следующие дни мы находим на стеклах громадные скопления спор *B. mycoides*. Вегетативные формы почти полностью отсутствуют (табл. III, *17*). Любопытно, что нередко клетки, тесно прилегающие к почвенным частичкам, дольше всех сохраняются в вегетативной стадии.

В дальнейшие сроки наблюдения над *B. mycoides* затрудняются. Дело в том, что уже с 7—9-го дня на стеклах появляются посторонние микробы, и поэтому требуется большая осторожность, чтобы некоторых из них по ошибке не принять за клетки *B. mycoides*. Мы предпочитаем поэтому не останавливаться здесь на различных интересных формах, которые в это время наблюдаются. Совершенно уверенно можно сказать, что споры наблюдаются и во все последующие сроки. Кроме спор, можно наблюдать интенсивно и гомогенно окрашенные клетки и тельца разнообразных очертаний. Скорее всего это клетки того же *B. mycoides*, но трудно сказать, новые ли это клетки, развившиеся из спор, или оставшиеся от исходного материала.

На 13—15-й день стекла становятся значительно беднее и спорами *B. mycoides* и посторонними микробами. Проращивание таких стекол с мясопептонным агаром всегда показывало наличие жизнеспособных *B. mycoides*.

Кроме подробно описанного здесь опыта, были поставлены аналогичные опыты с тою же подзолистою почвою, но в одном случае к ней было добавлено 2% $CaCO_3$, а в другом 2% $CaCO_3$ и 0.01% P_2O_5 в виде K_2HPO_4. Водная вытяжка таких почв имела pH, равный приблизительно 7.8. Оба эти опыта не дали ничего принципиально нового. Ход изменения *B. mycoides* был такой же. Только все процессы и интенсивность развития были значительно усилены по сравнению с первым опытом. Все формы клеток, ранее описанные, наблюдались здесь в значительно больших количествах; равным обра-

зом элементов распада клеток и посторонних микробов всегда можно было видеть значительно больше.

Из изложенного материала вытекает любопытное положение. Изменения *B. mycoides* в естественной и в стерилизованной почве совершенно различны.

Azotobacter chroococcum. После 24-часового пребывания в естественной, нестерилизованной почве клетки азотобактера имеют нормальный вид. Бурного образования инволюционных форм, как это было в стерилизованном подзоле, здесь не наблюдается. Клетки имеют тонкую оболочку и гомогенное содержимое. Одни хорошо красятся, другие (и их большинство) покрашены в слаборозовый цвет. Размеры их достигают 3.5 μ.

На 2-й день мы опять находим хорошо покрашенные и совершенно нормальные клетки азотобактера. Но большинство клеток явно разрушается, и на стеклах лежат остатки разрушенных клеток (табл. III, *18*). «Проращивание» стекол показывает, что имеются жизнеспособные клетки, хотя количество образовавшихся колоний не велико.

На 3-й день на стеклах, которые в предыдущие дни обнаруживали только беспорядочно разбросанные измельченные клетки, мы наблюдаем появление клеточных комплексов из крупных, круглых и овальных клеток азотобактера. Они интенсивно красятся и клетки в этих комплексах расположены в определенном порядке. Кроме того, среди отдельно лежащих клеток встречаются разрушающиеся, у которых окрашена только оболочка и отдельные части содержимого, а также совсем разрушенные клетки, у которых сохранилась только часть оболочки. На проращенных препаратах можно видеть, что разрушающиеся клетки не образуют колоний, а интенсивно красящиеся крупные клетки образуют колонии, состоящие из крупных же клеток.

Через 6—8—10 дней картина препаратов несколько меняется. На стеклах мы видим те же комплексы из крупных клеток и, с другой стороны, многочисленные разрушающиеся клетки.

Кроме этих уже виденных раньше форм, появляются комплексы часто правильной круглой формы, состоящие из мелких круглых клеток азотобактера, имеющих в поперечнике всего 1.0—1.5 μ.

Дальнейшие изменения препаратов наступают только с 10—12-го дня. Кроме ранее описанных форм, на стеклах появляются крупные овальные образования. Похоже, что они окружены оболочкой, внутри которой можно видеть четыре-пять или больше небольших клеток азотобактера. В некоторых случаях оболочка этих образований истончалась и разрывалась, и из нее высыпались мелкие клетки. Эти оригинальные формы встречаются на стеклах и во все последующие сроки. В культурах того же азотобактера на искус-

ственных питательных средах мы их никогда не видели. При проращивании препаратов они дают колонии из более мелких клеток (вклейка табл. IV, *19*).

Интересно отметить, что более крупные клетки азотобактера, о которых упомянуто вначале, при проращивании препаратов развивались в колонии с более крупными клетками (табл. IV, *20*). Таким образом азотобактер в почве расщепился как бы на мелкие и крупные формы. Эти мелкие формы можно видеть иногда и на «непроращенных» стеклах (табл. IV, *21*).

В дальнейшем количество посторонних микробов увеличивается и клеток азотобактера становится все меньше. Наблюдения поэтому затрудняются. На 16-е сутки опыт был прекращен.

Были также поставлены опыты с тою же почвой, но удобренной $CaCO_3$ и $CaCO_3 + K_2HPO_4$. В опыте с $CaCO_3$ в первые дни наблюдается сильное разрушение клеток, но количество колоний на проращенных препаратах всегда больше, чем в опыте без $CaCO_3$ После 10 суток стекла в обоих опытах мало отличались. В опыте с добавкой $CaCO_3$ и K_2HPO_4 можно было наблюдать и большее количество жизнеспособных форм азотобактера и чаще, чем в других опытах, образование капсульных форм.

Надо заметить, что некоторые формы азотобактера, которые обычны на искусственных питательных средах, ни разу не удалось наблюдать на почвенных стеклах. Так, например, на последних совершенно отсутствовали молодые формы клеток, имеющие вид палочки и часто соединенные попарно. Интересно еще то, что, в почвах с $CaCO_3$ и $CaCO_3 + K_2HPO_4$ образование мелких клеток азотобактера значительно менее резко выражено.

Rhizobium leguminosarum. Штамм клубеньковых бактерий гороха, с которым мы работали, при развитии на агаровой среде с бобовым отваром обнаруживал заметные изменения в структуре клеток в зависимости от возраста. В одно- или двухсуточных культурах бактерии имели вид коротких и тонких гомогенных палочек. В культурах четырех- и пятисуточных и более старых содержимое клетки распадалось на два хорошо красящихся зернышка, вокруг которых располагалась очень слабо окрашиваемая остальная часть плазмы. В этих случаях бактериальные клетки легко распадались на составляющие их зернышки и нередко последние целиком преобладали на препаратах.

В дальнейшем будут описаны два опыта с внесением этих бактерий в почву. В первом опыте мы вносили палочковидные односуточные бактерии. Во втором — зерновидные пятисуточные.

Начнем с опыта, когда в нестерилизованный естественный подзол мы вносили молодые клетки *Rh. leguminosarum.* Через двое суток мы не заметили никаких изменений. Клетки оставались совер-

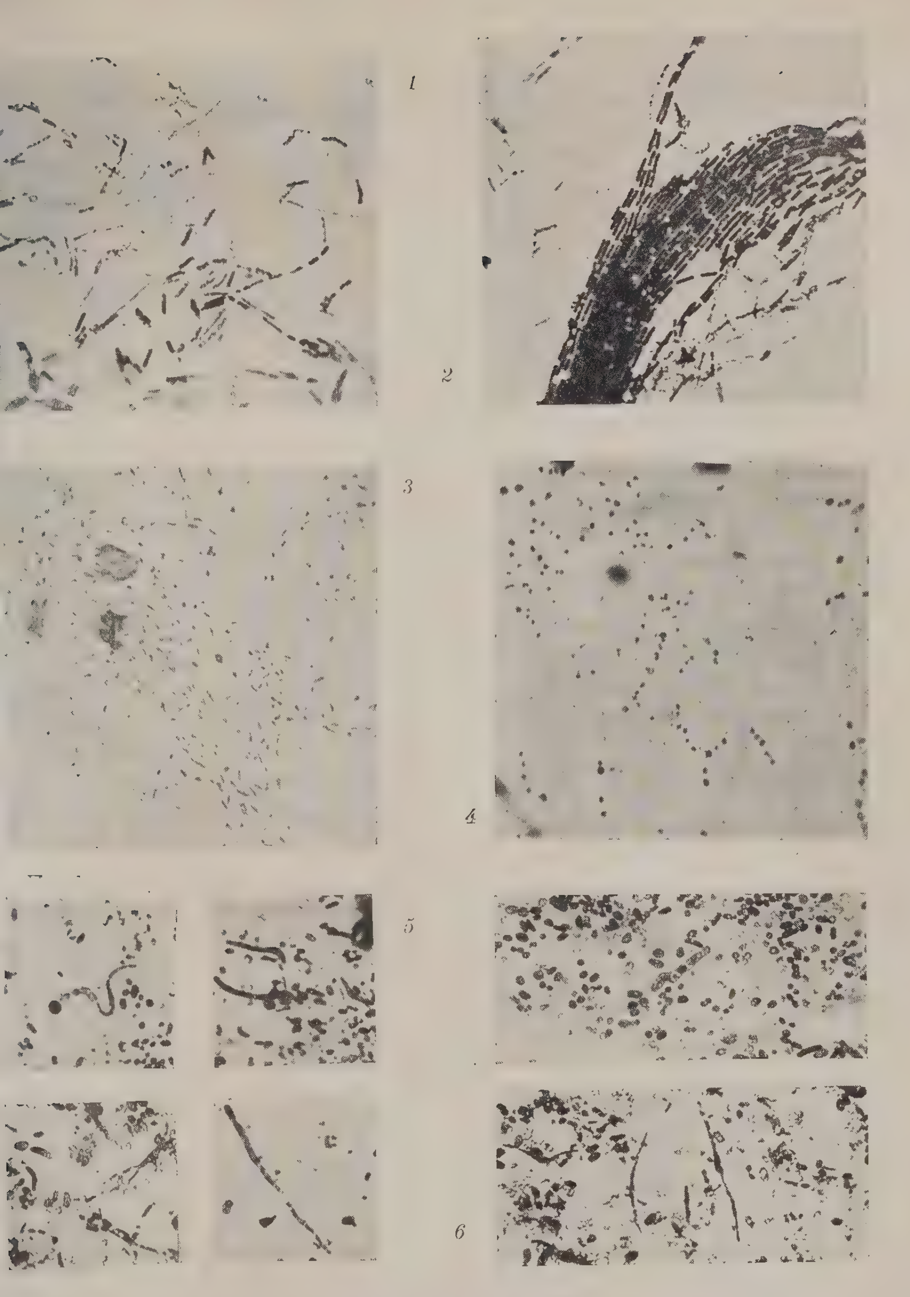


Таблица I. *1. B. mycoides* в стерилизованной почве через 1 сутки. Нормальные и разрушающиеся клетки. *2. B. mycoides* в стерилизованной почве через 2 суток. Разрушающиеся клетки. Нормальные клетки развились в цепочки и пряди. *3. B. mycoides* в стерилизованной почве через 5 суток. Массовое разрушение клеток. *4. B. mycoides* во влажной камере через 3 суток. Все клетки разрушены. Вместо клеток — окрашенные различных размеров зернышки. *5. Azotobacter chroococcum* в стерилизованной почве через 3 суток. Множество разнообразных инволюционных форм. *6. Azotobacter chroococcum* в стерилизованной почве через 5 суток. Инволюционных форм относительно меньше (вверху). Массовое разрушение клеток (внизу).

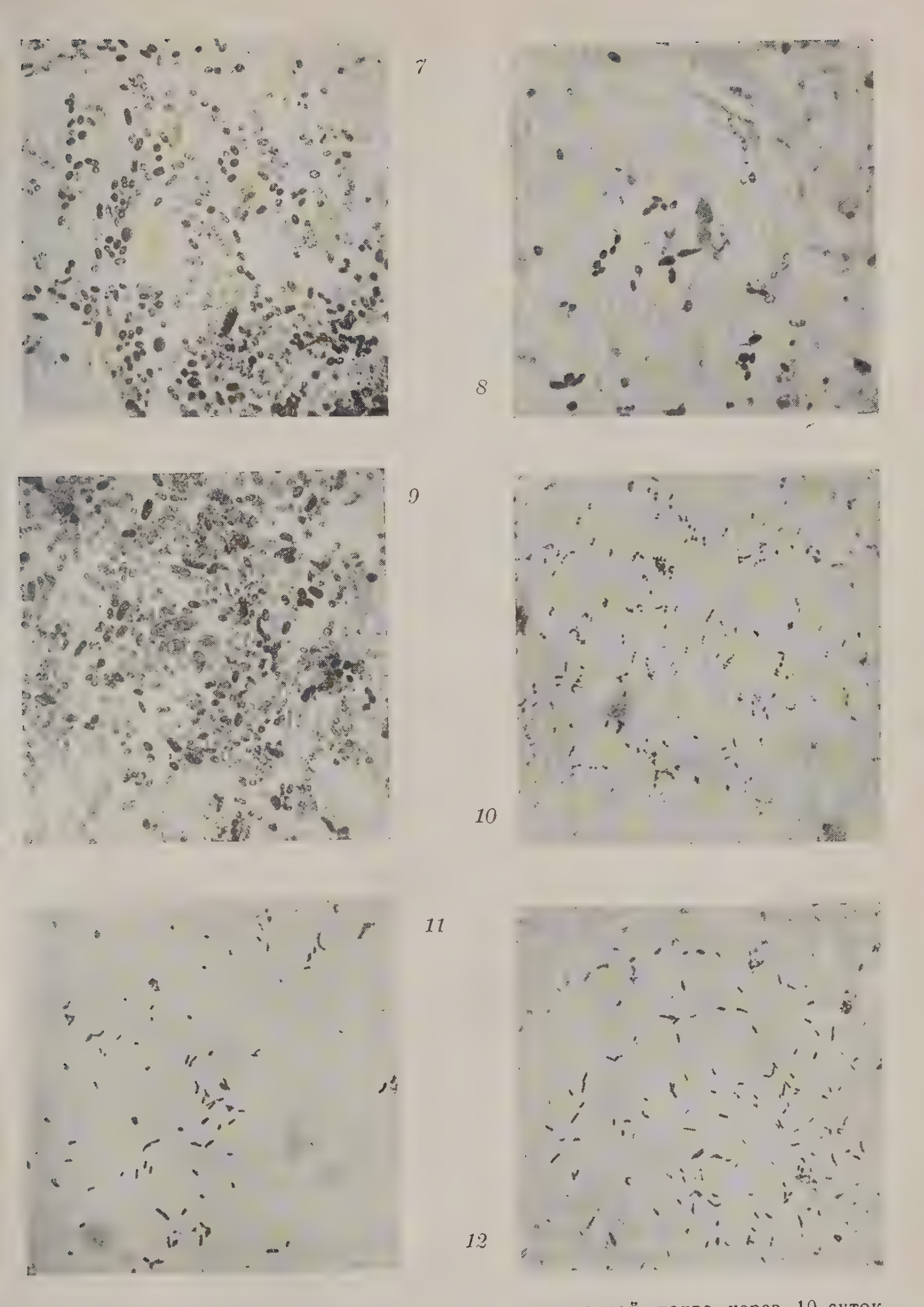


Таблица II. *7. Azotobacter chroococcum* в стерилизованной почве через 10 суток. Инволюционных форм мало. Множество разрушающихся клеток. *8. Azotobacter chroococcum* во влажной камере через 3 суток. Кое-где инволюционные формы. *9. Azotobacter chroococcum* во влажной камере через 15 суток. Множество разрушающихся клеток. *10. Rhizobium leguminosarum*. Вид бактерий до внесения их в стерилизованную почву. *11. Rhizobium leguminosarum* в стерилизованной почве через 1 сутки. Клетки удлинены и стали гомогенно окрашиваться. *12. Rhizobium leguminosarum* в стерилизованной почве через 6 суток. Наряду с «зернистыми» клетками множество гомогенных форм

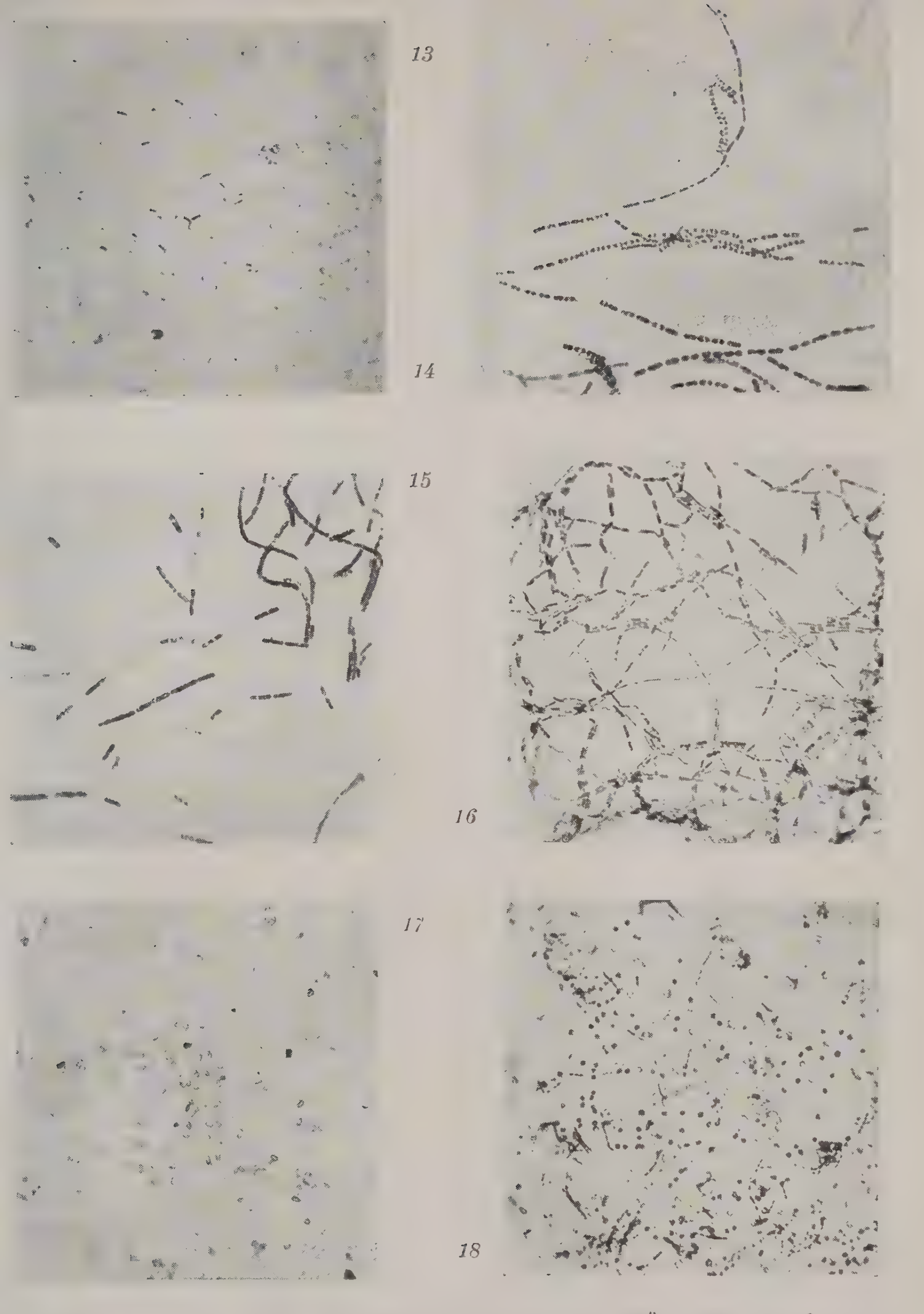


Таблица III. *13. Rhizobium leguminosarum* в стерилизованной почве через 6 суток. Процесс разрушения клеток клубеньковых бактерий. *14. Bacillus mycoides* [штамм «Зап»] на мясопептонном агаре через 1 сутки. Вид клеток до внесения их в почву. Видны цепочки полярно окрашенных клеток. *15. B. mycoides* в нестерилизованной почве через 1 сутки. Нормальные и разрушающиеся клетки. Нормальные клетки удлинены и утратили полярные тельца. *16. B. mycoides* на мясопептонном агаре через 7 суток. Часть клеток сильно утончены, неравномерно красятся и распадаются на зерна. Редко где видны споры. *17. B. mycoides* в нестерилизованной почве через 7 суток. Все клетки в виде спор. *18. Azotobacter chroococcum* в нестерилизованной почве через 2 суток. Наряду с нормальными клетками множество разрушенных (непокрашенных). Стекло сильно «загрязнено» посторонними микробами

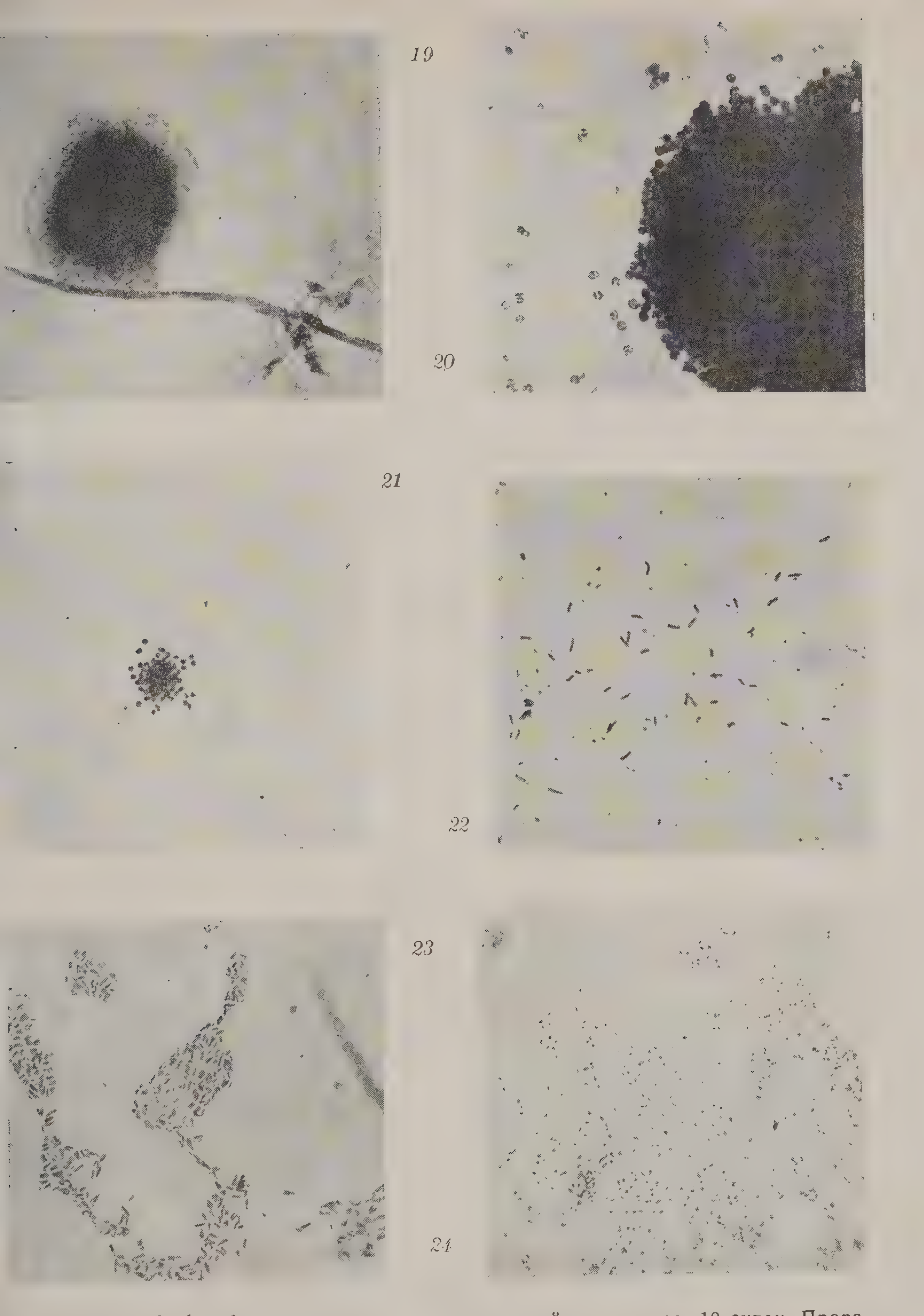
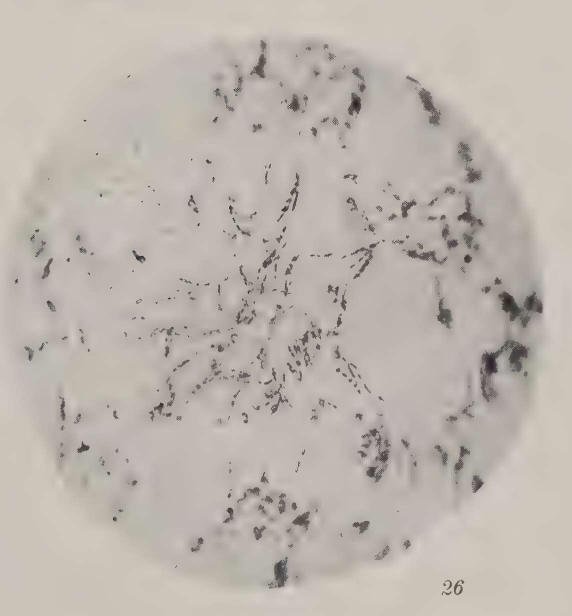
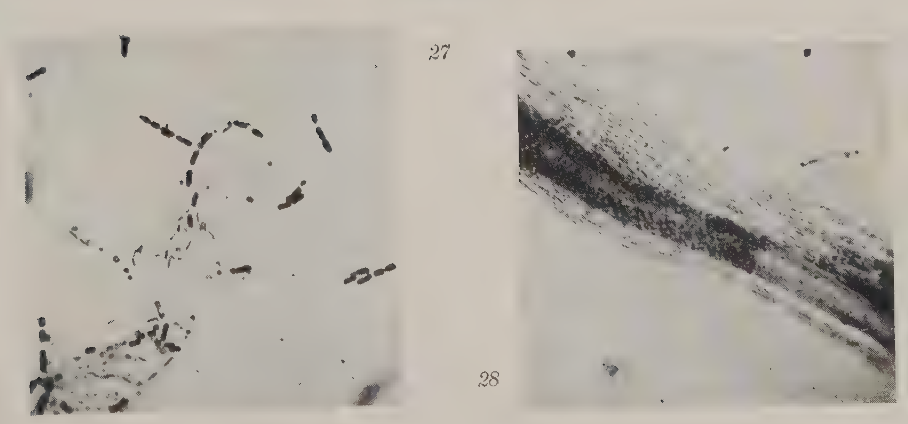


Таблица IV. *19. Az. chroococcum* в нестерилизованной почве через 10 суток. Проращенный препарат. Колония из мелких клеток азотобактера. *20. Az. chroococcum* в нестерилизованной почве через 12 суток. Проращенный препарат. Колония из крупных клеток азотобактера. *21. Az. chroococcum* в нестерилизованной почве через 10 суток. Не проращенный препарат. Группа мелких клеток азотобактера. *22. Rhizobium leguminosarum* в нестерилизованном подзоле через 2 суток. Клетки ничем не отличаются от исходных. *23. Rhizobium leguminosarum* в нестерилизованной почве через 6 суток. Значительные скопления нормального вида клеток. *24. Rhizobium leguminosarum* в нестерилизованной почве через 2 суток после внесения старой культуры

25



26



27

28

Таблица V. *25. Rhizobium leguminosarum* (старая культура) через 3 суток в нестерилизованной почве. Часть клеток увеличилась в размерах и стала лучше окрашиваться. *26. B. mycoides* в нестерилизованной почве через 5 суток. Сопровождающая *B. mycoides* тонкая палочка. *27. B. mycoides* в нестерилизованной почве через 2 суток. Сопровождающая тонкая палочка начинает окружать клетки *B. mycoides*. *28.* Бактериальные палочки окружают гифу гриба. Все фотографии произведены [illegible] Объектив Рейхерта [illegible] (101 x); увеличение 760 [illegible]

шенно такими же, как мы их вносили (табл. IV, *22*). Через четверо суток значительная часть клеток обнаружила признаки разрушения. Они стали очень плохо краситься и приобрели бледные, трудно различимые очертания, похожие на тени. Другая часть клеток на тех же стеклах хорошо воспринимала окраску, но приобрела зернистое строение, характерное для стареющих бактерий. Через шесть суток мы были удивлены картиной, которая представилась на препарате. Разрушающиеся клетки-тени исчезли. Но очень мало осталось и старых с зернистой структурой клеток. Вместо них мы нашли скопления хорошо развитых гомогенных палочек, характер расположения которых указывал на то, что они развились уже во время нахождения стекла в почве (табл. IV, *23*). В последующие дни мы продолжали находить на стеклах хорошо развитые бактерии. Но наблюдения сильно стали затрудняться посторонними организмами. Поэтому на 12-е сутки опыт был закончен.

Несколько иначе происходило дело, когда мы вносили в ту же почву более старые бактерии, клетки которых имеют вид зерен. Через двое суток никаких изменений не наблюдалось; на стеклах почти целиком преобладали округлые зернышки (табл. IV, *24*).

На пятые сутки можно было заметить среди большого числа первоначальных зерен появление мелких палочек (вклейка табл. V, *25*)[1]. В последующие дни количество последних увеличивалось. На 13—15-е сутки палочковидные формы стали преобладать. Это указывает, что клетки *Rh. leguminosarum* безусловно размножаются. На 17-е сутки этот опыт был прекращен, так как появление посторонних организмов затрудняло уверенное наблюдение наших клубеньковых бактерий.

Параллельно последнему опыту с четырехсуточными зернистыми бактериями были поставлены еще два опыта. В одном та же почва предварительно тщательно размешивалась с 2% $CaCO_3$, а в другом — с 2% $CaCO_3$ и 0.01% P_2O_5 (в виде K_2HPO_4). Оба последних опыта дали одни и те же результаты. Если в неизвесткованном подзоле превращение зернистых клеток в молодые гомогенные палочки начиналось лишь на 5-е сутки, то в известкованном подзоле оно начиналось уже через 24 часа. Других существенных различий в последних двух опытах не было, если не считать значительно более обильное появление посторонних микробов.

Описанные наблюдения позволяют предполагать, что молодые клетки наших клубеньковых бактерий более чувствительны к изменению режима при перенесении их в почву, и поэтому они частично

[1] На этом снимке в центральной части видны клетки, подобные бактероидам. Такие формы мы наблюдали только единственный раз и даже на этом препарате они чрезвычайно редки. Сказать, что это за клетки, конечно, невозможно.

подвергаются в последней разрушению. Старые же клетки более устойчивы, и поэтому таких процессов разрушения мы в наших опытах не наблюдали.

4. Бактерии, вносимые в почву, и «посторонние» почвенные микроорганизмы

Попутно с наблюдением бактерий, которых мы вносили в почву на поверхности стекол, можно наблюдать интересные картины, отображающие взаимоотношения между изучаемыми бактериями и другими почвенными микроорганизмами, которые выше обозначались как «посторонняя микрофлора». Сравнивая ту часть стекла, на которую наносились бактерии, с другими частями того же стекла и с «пустыми» контрольными стеклами, всегда можно заметить, что скопления бактерий, находящиеся на стекле, привлекают из гущи почвенного микронаселения определенных микробов. Это особая и чрезвычайно интересная область взаимоотношений между микробами почвы. Об этих явлениях мы знаем так мало, что позволяем себе привести здесь некоторые попутно произведенные наблюдения.

Первое, что бросается в глаза, это то, что различными бактериями привлекаются из почвы различные микроорганизмы. Повидимому, это происходит потому, что продукты, выделяемые различными бактериями в процессе их жизнедеятельности и при их разрушении, сильно отличаются по своему химическому составу.

Bacillus mycoides. Когда в почву вносится *B. mycoides*, то приблизительно дней через пять, когда клетки его образуют споры, появляется в большом количестве из почвы тонкая изящная палочка, которая густо покрывает все места препарата, где находятся клетки со спорами (табл. V, *26*). Появление этой тонкой палочки наблюдалось во всех опытах с *B. mycoides*. Она появляется только в местах, где находятся клетки этого микроба, и никогда не наблюдалась на других частях препаратов или на контрольных стеклах. Любопытно, что в небольшом количестве эти палочки появляются уже и на вторые сутки и тогда они нередко плотно прилегают к клеткам *B. mycoides* или их окружают (табл. V, *27*). Если на одном и том же стекле имеются и споры, и вегетативные клетки, то палочки эти группируются вокруг спор. Приблизительно на 9-е сутки количество этих тонких палочек резко уменьшается. Можно сказать, они исчезают так же внезапно, как неожиданно появляются.

В дальнейшем они встречаются единичными клетками, не чаще других бактерий. Повидимому, эта тонкая палочка в естественных местообитаниях *B. mycoides* находится в каких-то взаимоотношениях с этой бактерией. Может быть, она использует остатки клеток, образующиеся после спорообразования?

Что касается других микроорганизмов, привлекаемых из почвы клетками *B. mycoides*, то о них можно сказать лишь немногое. Клетки *B. mycoides* обусловливают большее развитие на стекле грибов и актиномицет, чем на контрольных пустых стеклах. Повидимому, эти организмы находят в элементах разрушения клеток *B. mycoides* какие-то благоприятные для своего развития продукты.

Иногда можно наблюдать интересное явление, когда бактерии окружают грибные гифы в виде толстого чехла. При этом бактериальные клетки расположены длинными осями параллельно длине гифы и следуют за последней при всех ее изгибах (табл. V, *28*).

Интересно еще следующее обстоятельство. После максимального развития на стеклах с *B. mycoides* всяких посторонних микроорганизмов во всех опытах можно было наблюдать резкое количественное уменьшение микрофлоры. Именно на 13—15-е сутки препараты становятся чрезвычайно бедными. Исчезают не только клетки *B. mycoides*, но и посторонние микробы, грибы, актиномицеты, простейшие, которые до этого придавали стеклам характерный вид. Это «самоочищение» препаратов напоминает явления смены микрофлор, которые описала Земенцкая при изучении микроорганизмов, привлекаемых на поверхности стекол нанесенными на них различными органическими веществами.

Azotobacter chroococcum. В первые трое суток на препаратах других организмов, кроме *Az. chroococcum*, не наблюдается. На 4—8-е сутки появляется в большом количестве спороносная крупная палочка, образующая на проращенных со средою Эшби препаратах настолько характерные колонии, что их всегда чрезвычайно легко узнать. Эти толстые, укороченные, иногда чуть ли не прямоугольной формы палочки напоминают описанный Ленисом *B. Ellenbachensis* Появление их вместе с азотобактером, повидимому, не случайно.

Вместе с этими спороносными палочками типа *B. Ellenbachensis* в эти же сроки (т. е. на 4—8-е сутки) можно видеть на стеклах много грибных и актиномицетных нитей; встречаются также сарцины. Интересно, что в тех местах, где проходят гифы грибов и нити актиномицет, клетки азотобактера находятся часто в состоянии интенсивного распада.

В последующие дни спороносные палочки и грибы заметно исчезают. На стеклах, извлеченных из почвы между 8—14-ми сутками, преобладают актиномицеты и формы, внешне напоминающие проактиномицеты и микобактерии.

Наконец, приблизительно дней через 16—20 и здесь также начинается «самоочищение» стекол. Грибы и актиномицеты все более и более распадаются, палочковидные формы исчезают и препараты становятся все беднее и беднее.

Rhizobium leguminosarum. В опытах с этой бактерией мы не наблюдали, как в предыдущих случаях, привлечения из почвы специфических микробов. Может быть, это объясняется тем, что в этих опытах не происходило массового разрушения клеток.

Кроме грибов, актиномицет и бактерий, во всех опытах замечались большие количества амеб.

5. Обсуждение результатов и выводы

Мы уже указывали, что оценка полученных результатов требует большой осторожности. Главное, что сама методика описанных наблюдений имеет много существенных недостатков. Важнейшие из них уже были отмечены.

При внесении бактерий на стеклах в почву мы наблюдаем, вообще говоря, троякого рода явления:

1. Интенсивно идущие процессы разрушения бактериальных клеток.

2. Процессы прорастания спор, деления клеток, образования цепочек, ассоциаций, спорообразования и т. д., которые мы для краткости назовем процессами развития.

3. Наконец, особая группа явлений, охватывающая взаимоотношения между определенными почвенными микробами и внесенными в почву бактериями.

Менее всего выясненными надлежит признать явления первой группы, т. е. интенсивно идущие процессы разрушения клеток. Дело в том, что и контрольные стекла с бактериями, но находящиеся не в почве, а во влажной камере, также обнаруживают быстрый распад и разрушение клеток. Поэтому не имеется достаточных оснований считать процесс разрушения клеток, протекающий в почве, специфичным. Может быть, во время нанесения бактерий на стекло мы травматизируем достаточно много клеток и поэтому наблюдаем интенсивное их разрушение. Микробиолог часто не учитывает того простого обстоятельства, что нередко как будто совершенно невинные манипуляции могут привести к массовой гибели клеток. Например, как показали Sherman и Albus достаточно *Bact. coli* из бульонной культуры перенести в 2% NaCl, чтобы уже через один час 94—99% всех клеток погибли. При этом именно наиболее молодые клетки, находящиеся в логарифмической фазе размножения, оказываются наиболее чувствительными; старые же клетки вполне устойчивы. В наших опытах мы работали с молодыми клетками, и их гибель вследствие резкой перемены условий совершенно не исключена.

Вторая группа явлений, которые мы выше назвали «процессами развития», совершенно своеобразна и должна быть отнесена именно условиям почвы. На контрольных стеклах, находящихся во влаж-

ной камере, эти процессы не происходят. При этом выявляется ряд интересных особенностей:

1. Одни бактерии (*Azotobacter*, *B. mycoides*) в нашей стерилизованной почве не развиваются, а другие, наоборот, находятся в такой почве в активном состоянии (*Rh. leguminosarum*).

Эти явления указывают, повидимому, на возникновение в почве в процессе стерилизации каких-то токсических для некоторых микробов веществ. Указания такого рода были сделаны многими авторами. В частности, предполагали, что эти токсические вещества могут образоваться за счет превращений органического вещества почвы.

Возможно и другое объяснение этого явления, которого придерживается Майер. По его мнению, бактерии, не развивающиеся в стерилизованных почвах, предъявляют высокие требования к условиям питания (они могут нуждаться в сложных углерод- и азотсодержащих органических веществах, или в витаминах, или в некоторых продуктах жизнедеятельности микроорганизмов — симбиоитов), которые уничтожаются и разрушаются при стерилизации почв (Archiv für Mikrobiologie, **6**, 469, 1936).

2. Процессы развития бактерий в нормальной нестерилизованной почве могут существенно отличаться от этих же процессов на искусственных питательных средах. Наиболее важные из этих отличий следующие:

а) В почве процессы развития обычно растянуты на более длительные сроки. Например, *Rh. leguminosarum* на искусственных питательных средах уже через 4—5 суток прекращает свое развитие. В условиях почвы та же бактерия продолжает размножаться в течение 2 недель и более. Азотобактер на искусственных средах сравнительно быстро переходит в состояние «капсульных» клеток. Азотобактер в почве (при добавке $CaCO_3$ или $CaCO_3$ и K_2HPO_4) очень долгое время может находиться в виде обычных бескапсульных клеток. У спорообразующего *B. mycoides* растянутость сроков развития в почве менее всего или почти вовсе не обнаруживается.

б) В почве бактерии могут вовсе не обнаруживать те или иные формы развития, которые установлены при их развитии на искусственных средах. В этом отношении характерен азотобактер. На искусственных питательных средах он обнаруживает весьма определенный цикл развития. При развитии того же азотобактера в почве мы находим, с одной стороны, необычные для искусственных сред образования и, с другой, отсутствие такой стадии, как форма палочки.

Другой интересный пример представляет собой *B. mycoides*. При развитии в почве, сильно задержанное на искусственных средах, спорообразование бурно проявляется.

в) Развивающиеся в почве бактерии могут существенно морфологически отличаться от бактерий, развивающихся на агар-агаре. Например, у *B. mycoides* в почве почти не проявляется полярная окрашиваемость клеток, а сами клетки значительно больших размеров, чем на агар-агаре. И у *Rh. leguminosarum* размеры клеток в почве очень часто заметно больше, чем у клеток на агар-агаре.

Наконец, третья группа наблюдаемых на стеклах явлений охватывает взаимоотношения между внесенными в почву бактериями и определенными почвенными микробами. Здесь наши знания чрезвычайно обрывочны и неточны. Единственно, что можно уверенно сказать, что эти явления чрезвычайно важны. Скопления бактерий в почве вызывают, повидимому, исчерпание тех веществ, которые необходимы для этих организмов. В этой стадии такие бактерии становятся ареной действия других почвенных микроорганизмов. То же самое, повидимому, происходит с элементами клеток, остающимися после спорообразования. Они тоже используются определенными почвенными микробами и благодаря им вновь вступают в круговорот веществ.

Микробиологический институт.
Академия Наук СССР.
Москва.

ЛИТЕРАТУРА

1. Winogradsky S., Ann. Inst. Pasteur, 39, 1925, 299.
2. Rossi G., Festschrift anlässlich d. 70 Geburtstages von I. Stoklasa, 1928.
3. Cholodny N., Archiv f. Mikrobiologie, 1, 1930, 620.
4. Холодный Н. Г., Микробиология, 2, 1933, 329.
5. Разумов А. С., Микробиология, 2, 1933, 346.
6. Ziemilcka J., Centr. f. Bakt., II, 91, 1935, 379.
7. Meyer R., Archiv für Mikrobiologie, 6, 1936, 461.

D. NOVOGRUDSKY, E. KONONENKO and A. RYBALKINA. THE CHANGE OF BACTERIA AFTER THEIR INTRODUCTION INTO THE SOIL

SUMMARY

How do bacteria change after they are introduced into the soil?

The principal difficulty in the study of bacteria in the soil is that we do not know how to introduce the bacteria into the soil and how to extract them after a certain period of time and examine them under the microscope.

The authors decided to avoid the difficulties above mentioned by adopting the following method: not to wait until the soil bacteria begin to attach themselves to the surface of the slide placed in the soil (methods of Rossi and Cholodny), but to place definite species of bacteria

on slides, put these slides into the soil and take them out when it is desirable to examine the bacteria under the microscope.

A detailed description of the course of investigation is given below.

All the tests were carried out with a moderately podzolized soil of a potato field, samples of which were taken in November 1935, after harvesting. 600—700 g of freshly obtained screened soil are placed in a Koch dish (15 cm in diameter) and moistened with tap water up to 50% of its saturation capacity. Slides — the size of which measured one fifth of the standard slide (15×25 mm) — were kept in a chrome mixture during 24 hours and then washed in running water during 4—6 hours. After the glasses had been dried in the air the bacteria to be investigated were put across the same in a strip of 3—5 mm. The best manner of procedure is the following: The required species of bacteria are inoculated on fresh slanted agar, forming a great quantity of condensation water. After the bacteria have developed one takes several loops of the condensation liquid and spreads it on the slide. It is difficult to obtain even films of bacteria from dried solid media. *B. mycoides* from 24-hour culture were deposited on ordinary meat-peptone agar; *Azot. chroococcum* from 24- or 48-hour culture, on Ashby agar; *Rhizobium leguminosarum* from 48-hour culture, on agar with bean decoction or with yeast water. After the slide had been prepared in this way a vertical cut was made in the soil with a spatula and the slide with the bacteria spread on the same was carefully applied to the soil surface, the other side of the slide being closely pressed to the soil. A small part of the slide edge was left protruding above the soil surface (fig. 2). Besides such slides with bacteria clean control slides were also placed in the dish, as 30—35 slides may be easily placed in a dish of the dimensions indicated above. The dishs containing the slides put into the soil were covered with lids and kept at room temperature. They were weighed every day and the changes in moisture were found to be very slight.

The slides were taken out of the soil at different periods in the different tests. Great care must be taken in extracting the slides lest the bacteria film should be disturbed. After being extracted and air-dried the slide is fixed (either by vapour of osmic acid or on the flame — no difference was noted between these two methods). If lumps of soil remained on the slide the preparation was washed with water. The preparations were stained with 1% erythrosine in 5% carbolic water during 15—20 min. Several stained and dried slides were stuck with canada balsam on one microscope slide and kept in this way (fig. 2).

In separate tests, owing to different conditions, this method was partly altered or supplemented by other ways of investigation. For instance, in the first tests the slides with bacteria were buried in soil that had been sterilized at 110° during 1 hour. In other tests the slides were partly

buried in bowls filled with natural soil without any additions, and partly in other bowls filled with the same soil with the addition of various substances.

In a number of cases two slides were taken out simultaneously. One of them was fixed and coloured in the way mentioned above, while on the other the bacteria were examined alive in a drop of water. Lastly, in examining various forms of bacterial cells it was often important to decide whether the formations we had before us were viable or not. In order to decide this question we took some other slides out of the soil which were not fixed, but their surface covered with 0.2% meat-peptone agar or with Ashby nitrogenless agar. Such little glasses were placed in bowls lined at the bottom with moist blotting-paper and left there for 24 hours at a temperature of 25°. After this they were fixed in vapour of osmic acid and stained with erythrosine in the usual manner. When such glasses were examined under the microscope it could be seen which forms of cells had multiplied and which of them had lost their viability.

The control slides that were used in each test served various purposes. In order to decide the question whether the changes in the bacteria, that had been deposited on the slides buried in the soil, were actually due to their being kept in the soil, and not to the fact that they had been submitted to greater moisture, a number of control slides with bacteria deposited on them were in each test not buried in the soil, but were left in a moist chamber for the same period of time and at the same temperature. Every time that a slide with bacteria was extracted from the soil and examined under the microscope, a similar slide was taken out of the moist chamber and treated in the same way. The changes of bacteria in a moist chamber and the changes of the same bacteria in the soil — are quite different phenomena. In order to ascertain whether the foreign microorganisms that appear in great quantities in the places where the bacteria under investigation were deposited, actually depend on the accumulation of the latter, clean slides were buried in the soil every time, and the microorganisms of these slides were compared with those of the slides with bacteria.

By means of this method a detailed investigation of three organisms was made: *B. mycoides, Azotobacter chroococcum* and *Rhizobium leguminosarum*.

The results obtained can be briefly summarized as follows:

When bacteria on slides are introduced into the soil, there are noted three kinds of phenomena:

I. Intense processes of destruction of bacterial cells.

II. Processes of spore germination, cell division, chain, association, and spore formation, etc. which for the sake of brevity we will call processes of development.

III. Lastly, there is a special group of phenomena, comprising the mutual relations between definite soil microbes and the bacteria introduced into the soil.

I. The phenomena of the Ist group, i. e., the intense processes of cell destruction are the least elucidated ones. It is noted that immediately after the glasses with bacteria have been introduced into the soil, a great number of cells perish (See table III, *15, 16, 18*). Nevertheless, it cannot be affirmed that this is a specific phenomenon for bacteria in the soil. It is a fact that the control slides with bacteria, that have been placed not in the soil, but in the moist chamber, also show a rapid disintegration and destruction of the cells, although these processes differ from analogous processes in the soil. It is possible that the great number of cells destroyed was due to some defects of the method itself, i. e., due to the circumstance that a very great number of cells had been deposited on the slides and that this had created abnormal conditions for the existence of the same in the soil. It is also possible that when the bacteria were deposited on the slide, a considerable number of cells were injured and that this was the cause of their destruction.

II. The second group of phenomena, which we mentioned above as the «processes of development» is most original and must be referred to soil conditions. These processes do not take place on the control slides placed in the moist chamber. A number of interesting peculiarities is thereby observed:

1. The bacteria *B. mycoides* and *Az. chroococcum* do not develop at all in our sterilized soil. After having been introduced into the soil, the majority of the cells are destroyed and perish, only an insignificant part of the cells of *B. mycoides* turning into spores (table I and II, *1—9*). In sterilized soil the cells of the above mentioned bacteria rapidly produce a great abundance of queerest involutional forms (fig. 3 and table I, II, *5—8*). On the other hand, other bacteria, for instance the *Rhizobium leguminosarum* exist in sterilized soil in an active state (table II and III, *10—13*).

Evidently, these phenomena indicate that in the process of sterilization substances arise in the soil that prove toxic to some microbes.

2. The processes of development of the investigated bacteria in normal unsterilized soil differs essentially from the same processes in artificial nutrient media. The most important of these differences are the following:

a) The processes of development in the soil usually cover a long period of time. For instance, the development of *Rhizobium leguminosarum* on artificial nutrient media ceases already after 4—5 days. Introduced into the soil, the same bacteria continue multiplying during the course of two weeks and more. On artificial media the *Azotobacter* in a comparatively short period of time passes into the state of repose, or

that of «capsulated» cells. In the soil the *Azotobacter* — with the addition of $CaCO_3$ or $CaCO_3 + K_2HPO_4$ — can remain for a long time in the state of active, capsuleless cells. A long period of development in the soil is least of all or not at all noticed in the spore-bearing *B. mycoides*.

b) In the soil, bacteria may not show certain forms of development that were established during their development on artificial media. In this respect the *Azotobacter* is a characteristic instance. On artificial nutrient media it shows a most definite cycle of development. When the same *Azotobacter* is developed in the soil, we find, on the one hand, formations that are unusual in artificial media, described in the present article under the name of «cellular complexes», and, on the other hand, the absence of such stages as the form of bacillus. Cellular complexes are groups of cells that sometimes are of a regular shape. Some of them consist of large cells; others, of small ones (table IV, *21*).

Another instance we find in the *B. mycoides*. The formation of spores is much delayed when they are developed on artificial media, while it shows rapid progress when they are developed in the soil (table III, *16—17*).

c) Bacteria developed in the soil may morphologically differ from bacteria developed from agar; for instance, when *B. mycoides* are developed in the soil they hardly show any polar staining of the cells, and the cells themselves are of a much larger size than on agar (table III, *14—15*). In the *Rhizobium leguminosarum* the size of the cells in the soil is also markedly larger than that of the cells on artificial media.

III. Lastly, the third group of phenomena observed on the slides comprises the mutual relations between bacteria introduced into the soil and other soil microbes. Our knowledge in this sphere is most incomplete and inexact. Some of the more interesting observations shall be mentioned here.

1. Different bacteria attract different microorganisms from the soil. For instance, the *B. mycoides*, particularly when spores begin to form in their cells, attract a thin bacillus from the soil, which surrounds all the places taken up by the *B. mycoides* (table V, *26—27*). This bacillus does not always appear on glasses with *Azotobacter* or *Rhizobium*.

2. The *Azotobacter chroococcum* attracts from the soil thick and short spore-bearing bacilli of the type of *B. ellenbachensis* or *B. megatherium*, as well as a great quantity of fungi and actinomycetes. At later periods the sporing bacilli and fungi are replaced by actinomycetes and forms resembling proactinomycetes and mycobacteria.

3. On slides with *Rhizobium* no special forms were noted, connected only with these bacteria. There often appear fungi, actinomycetes, protozoa and other microbes.

4. It has been observed in all tests that after a maximum development of «foreign» microbes on slides, there began «a self-purification» of the glasses, i. e. the microflora showed a more or less marked decrease, in consequence of which the preparations become very poor. Not only the bacteria deposited on the slides disappear, but also the fungi, the actinomycetes, protozoa and other microbes, owing to which the slides had their characteristic aspect.

The accumulation of bacteria in the soil evidently causes the exhaustion of substances necessary for these organisms. At this stage such bacteria become the sphere of activity of other soil microorganisms. The same, evidently, happens with cell elements remaining after the formation of spores. They are also utilized by definite soil microbes and owing to the latter are again included in the transformation cycle of substances.

The Microbiological Institute
of the Academy of Sciences of the USSR.
Moscow.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences
athématiques et naturelles

Отделение математических
и естественных наук

А. ИМШЕНЕЦКИЙ и Л. СОЛНЦЁВА

ОБ АЭРОБНЫХ ЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ БАКТЕРИЯХ

(Представлено академиком **Г. А. Надсоном***)*

Установлено, что изолированные из почвы бактерии могут быть отнесены к двум группам: *Myxobacteriales* и к роду *Cellvibrio*.

Помимо выделенного из почв Заволжья и дающего типичные плодовые тела *Polyangium cellulosum* nov. sp. к миксобактериям относятся также и различные виды *Cytophaga*. Жизненный цикл и строение последних позволяют объединить их с миксококками.

К факультативным целлюлозным бактериям относятся *Cellvibrio*, рост которых возможен на средах с другими углеводами. Вибрионы, разлагающие клетчатку, отличаются от *Cytophaga* и по ряду других признаков. Приведены также результаты изучения продуктов разложения клетчатки аэробными бактериями и некоторые наблюдения по разрушению целлюлозы смешанными культурами.

Начало нового этапа в изучении аэробного разложения целлюлозы микроорганизмами связано с описанием в 1919 г. Хетчинсоном и Клейтоном (Hutchinson and Clayton) бактерии, выделенной из Ротамстедской почвы и названной *Spirochaeta cytophaga*. Две наиболее характерных особенности этого организма отличали его от других бактерий. В цикл его развития входило образование шаровидных форм покоя («спороиды»), обладающих по сравнению со спорами бактерий незначительной терморезистентностью, и он развивался исключительно на средах с клетчаткой. Другие углеводы не только не могли заменить целлюлозы, но задерживали развитие *Sp. cytophaga*.

Возможно, что некоторые целлюлозные бактерии, описанные до Хетчинсона и Клейтона или независимо от них несколько позднее, были формами, близкими к *Sp. cytophaga* или идентичными с ней (van Iterson, Gescher). Но это нисколько не умаляет значения работы английских авторов, впервые доказавших существование строго специализированных микроорганизмов, усваивающих только углерод целлюлозы.

В исследованиях Groenwege, Sack, Gray и Chalmers, опубликованных в ближайшие годы после появления работы Hutchinson и Clayton, было описано несколько видов бактерий, разлагающих клетчатку, но среди них не было форм, родственных или идентичных с *Sp. cytophaga*.

Успехи дальнейшего изучения аэробных целлюлозных бактерий в значительной мере связаны с введением в практику микробиологических исследований пластинок кремнекислого геля. Еще в 1922 г. в работе Gescher был применен гель при культивировании бактерий, разлагающих клетчатку. Детально эта методика была разработана Виноградским, Bojanowsky, Waksman и получила широкое распространение.

Начиная с 1925 г., Вимоградским было сделано несколько сообщений о разложении целлюлозы аэробными бактериями, а в 1929 г. появилась его работа, обобщающая результаты продолжительных исследований в этой области. Им было установлено, что при посеве почвы на элективные среды (фильтровальная бумага, пропитанная минеральной средой и находящаяся на пластинках геля) вокруг частиц почвы появляются пятна, окрашенные в различные оттенки желтого, оранжевого, розового или зеленого цвета. Возникновение этих цветных зон связано с развитием бактерий, разлагающих клетчатку. Из цветных пятен путем последовательных пересевов можно получить культуры, в которых будут доминировать целлюлозные бактерии. Постоянство результатов микроскопии и цвета окрашенных зон, говорящих о решительном преобладании определенного вида, достаточно для того, чтобы признать такой штамм очищенным. Все изолированные целлюлозные бактерии могут быть отнесены к трем группам — *Cytophaga*, *Cellvibrio* и *Cellfalcicula*.

К *Cytophaga* относятся формы, родственные *Spirochaeta cytophaga* Hutch. a. Cl. Считая, что связь этих организмов со спирохетами лишена оснований, Виноградский устанавливает новый род *Cytophaga*, объединяющий изогнутые с заостренными концами палочки, развивающиеся на клетчатке с образованием преимущественно желтых или оранжевых пятен. Способность разлагать целлюлозу у всех представителей этой группы строго специфична; на обычных средах они не размножаются. Встречающиеся в культурах шаровидные клетки не являются, по мнению Виноградского, стадией развития бактерии. Это посторонние кокки, размножающиеся уже после разложения клетчатки *Cytophaga*. Из видов, относящихся к *Cytophaga*, подробно описывается *Cyt. Hutchinsonii* и более кратко *C. aurautiaca*, *C. rubra*, *C. lutea* и *C. tenuissima*, отличающиеся друг от друга по размерам клеток и цвету образуемого ими пигмента.

Бактерии, объединенные в род *Cellvibrio*,— это изогнутые подвижные с одним жгутиком палочки, дающие желтые пятна на бумаге. Они способны развиваться не только на средах с целлюлозой, но и на субстратах с пептоном, крахмалом или глюкозой, и это дало возможность выделить один вид в чистой культуре. Размножение вибрионов происходит быстро, но разложение клетчатки менее глубокое, чем вызываемое *Cytophaga*. Описано два вида: *Cellvibrio ochracea* и *C. flavescens*.

Третья группа целлюлозных бактерий, именно род *Cellfalcicula*, по характеру своего действия на клетчатку приближается к предыдущей. Относящиеся сюда *Cellfalcicula viridis*, *C. mucosa* и *C. fusca* имеют клетки веретенообразной или серповидной формы, снабженные одним жгутиком. При их развитии на целлюлозе возникают зеленые или кремовые пятна.

В работе Виноградского также приведены результаты биохимических исследований; на них мы остановимся в дальнейшем при рассмотрении продуктов разложения целлюлозы.

В 1930 г. Krzemieniewska, выделив из почвы Ботанического сада обогащенную культуру *Spirochaeta cytophaga*, изучила историю развития этого организма. Наблюдая за размножением *Cytophaga* на прозрачных пластинках целлофана, увлажненных минеральной средой, Krzemieniewska проследила за постепенным превращением длинных вегетативных клеток *Cytophaga* в шаровидные образования — микроцисты. Последние способны прорастать, и из них выходят короткие, затем удлиняющиеся палочки, оболочки же микроцист остаются в виде пустых чехликов. Таким образом результаты ее исследований подтвердили предположение Hutchinson и Clayton о том, что наблюдавшиеся ими «коккоиды» не посторонние бактерии, а входят в

цикл развития *Cytophaga*. В этой же работе Krzemieniewska указала на сходство, существующее между историей развития *Cytophaga* и циклом развития *Myxococcus*, относящихся к миксобактериям. Изучению отдельных фаз индивидуального развития *Cytophaga* была посвящена работа Исаченко и Вакенгут, опубликованная в 1932 г. Описываемый ими цикл развития имеет шаровидную стадию покоя, из которой могут снова возникать молодые формы *Cytophaga*.

В том же году Юдович (Judowicz) выделила обогащенные культуры целлюлозных бактерий, относящиеся к *Cytophaga* и *Cellvibrio* и развивающиеся только на минеральных средах с клетчаткой. Все попытки получить чистую культуру *Cytophaga* были безуспешны.

Юдович впервые произвела опыты с фильтрацией культур *Cytophaga*, но фильтрующихся форм не обнаружила.

В исследованиях Рокицкой (1933), изучавшей распространение *Cytophaga* в почвах Украины, также описаны морфологические изменения клеток *Cytophaga*, наблюдаемые при образовании микроцист. Присутствие этого организма удалось обнаружить в образцах различных почв; особенно часто *Cytophaga* была находима в почвах удобренных и почвах лиственных лесов, а также в ризосфере различных растений.

В ответ на возражения, сделанные Виноградским, считавшим, что в культурах *Cytophaga* присутствуют посторонние кокки, Krzemieniewska в 1933 г. опубликовала вторую работу о морфологии бактерий, принадлежащих к роду *Cytophaga*. Ею был подтвержден факт превращения клеток *Cytophaga* в микроцисты и дополнительно было изучено влияние температуры, аэрации, pH и некоторых углеводов на процесс прорастания микроцист. Одновременно со *Spirochaeta cytophaga*, которая была переименована в *Cytophaga myxococcoides*, Krzemieniewska описала, к сожалению очень кратко, еще два вида — *Cyt. Hutchinsonii* и *Cyt. aurautiaca*, вегетативные формы которых не образуют микроцист, но превращаются в инволюционные шаровидные клетки, не способные к прорастанию.

Опубликованное в 1934 г. первое сообщение Stapp и Bortels о микроорганизмах, разлагающих клетчатку в лесных почвах, содержит описание нескольких форм бактерий. Для получения обогащенных культур авторы вносили небольшое количество лесной подстилки и почвы в колбы, содержащие минеральную среду и клетчатку в форме бумаги или целлофана. Выделение культур осуществлялось с помощью посевов на целлюлозный агар, содержащий клетчатку, обработанную серной кислотой, и обычно употреблявшийся раствор солей. При изолировании чистых штаммов *Cytophaga* возникли значительные затруднения. Развитие *Cytophaga* происходило только при одновременном размножении сопутствующих бактерий. Так как аналогичные наблюдения были уже неоднократно сделаны по отношению к анаэробным целлюлозным бактериям, то Stapp и Bortels считают, что разложение клетчатки *Cytophaga* также может быть вызвано только симбионтными культурами.

Среди изолированных *Cytophaga* были формы, вегетативные клетки которых не превращаются в микроцисты. Эти виды, сбладающие также специфическим действием на клетчатку, были выделены только в обогащенных культурах. Сюда относятся: *Cytophaga silvestris*, *C. annularis*, *C. crocca* и *C. flavicula*. Указание о том, что размножение *Cytophaga* возможно только в присутствии бактерий-спутников, относится именно к этим формам, так как авторы получили безукоризненно чистую культуру *Cytophaga globulosa*, в цикл развития которой входит образование шаровидных микроцист.

Этот организм, повидимому, идентичен со *Spirochaeta cytophaga* Hutch. a. Cl., а также бактериями, изучавшимися Krzemieniewska, Dubos, Рокицкой и др.

В работе Stapp и Bortels впервые было обращено внимание на склонность вегетативных клеток *Cytophaga globulosa* соединяться друг с другом, образуя шаровидные или овальные скопления, содержащие иногда зрелые микроцисты. Такое

«Stern»- и «Hacken-Bildung», как его обозначают авторы, наблюдалось также и у других видов *Cytophaga*.

Из вибрионов, разлагающих целлюлозу, были изолированы *Cellvibrio fulva*, растущий на фильтровальной бумаге с образованием желтого пигмента, и сходный с ним *Cellvibrio vulgaris*, не дающий пигмента. Оба вида развивались не только на средах с клетчаткой, но и на некоторых других субстратах (среда с крахмалом, картофельный или морковный агар и др.).

Изучение физиологии целлюлозных бактерий было преимущественно связано с выяснением влияния различных углеводов и источников азотистого питания на разложение клетчатки. Было установлено, что растворимый крахмал, декстрин и сахароза в концентрации до 1% включительно не задерживают развития *Cytophaga*, тогда как в присутствии продуктов разложения целлюлозы — именно целлотетраозы, целлотриозы, целлобиозы — разрушение клетчатки в зависимости от концентрации происходило медленнее или не поступало совсем. Наиболее неблагоприятное действие на размножение *Cytophaga* оказывала глюкоза.

Параллельно с исследованиями о *Spirochaeta cytophaga* в литературе появлялись сообщения об аэробных целлюлозных бактериях весьма различных по своим морфологическим и физиологическим признакам (Bokor, Rippel u. Flehmig, Simola, Gray a. Chalmers, Горовиц-Власова и др.).

Все успехи в изучении микроорганизмов, разлагающих клетчатку, связаны с применением элективных сред. Но всегда ли на этих средах развиваются совершенно «новые» обособленные в систематическом отношении виды или таким путем отбираются лишь некоторые формы, входящие в уже известные и изученные группы микроорганизмов. Помимо констатации генетической связи между специализированными и лишенными этой функции организмами, относящимися к одному и тому же семейству или роду, особенное значенне приобретают поиски переходных между ними форм. Такой сравнительно физиологический метод изучения может дать некоторые данные о физиологической изменчивости микроорганизмов, в результате которой возникли формы, адаптированные только к определенным условиям существования.

Данная работа основана на изучении целлюлозных бактерий, изолированных из почвы Заволжья (Саратовский край, ст. Ершово) и Москвы. Ее цель — дать краткое описание морфологии и физиологии наиболее распространенных в почве бактерий, разлагающих клетчатку в аэробных условиях.

Методика

В процессе работы с целлюлозными бактериями возникает ряд затруднений методического характера, и поэтому мы подробно изложим методику исследований. Но предварительно несколько замечаний о том, какие бактерии могут быть названы целлюлозными. В некоторых исследованиях (Kellermann и Mc Beth, Scales и др.) способность бактерий разлагать клетчатку устанавливалась путем посе-

вов на целлюлозный агар. Развитие бактерий на этой среде и появление вокруг колоний «энзиматических» зон просветления считалось достаточным для отнесения их к организмам, разрушающим целлюлозу. Следующие соображения побудили нас отказаться от целлюлозного агара при выделении культур.

1) На этой среде способны развиваться самостоятельно, в чистой культуре, некоторые сапрофитные бактерии почвы, не разлагающие клетчатки.

2) Образование зон просветления вокруг колонии может зависеть не от разрушения целлюлозы, а от ряда других причин — растворения мела или солей, врастания бактерий в толщу среды и т. д. На возможность появления неспецифических прозрачных зон на целлюлозном агаре уже было обращено внимание (Gescher, Виноградский).

3) Во время приготовления целлюлозного агара клетчатка подвергается действию реактивов (кислоты, реактив Швейцера), которые в сильной степени ее изменяют. Существенно, что мерсеризация делает целлюлозу более доступной действию энзимов. Так, по Karrer'у 96% такой клетчатки довольно быстро, под влиянием целлюлозы, выделенной из кишечника улитки, переходит в глюкозу.

Возвращаясь к поставленному выше вопросу, необходимо признать, что целлюлозными бактериями могут быть названы только микроорганизмы, разлагающие нативную не подвергавшуюся никакой обработке клетчатку. Бактерии, растущие на целлюлозном агаре, хотя бы и дающие прозрачные зоны вокруг колоний, но не разрушающие неизмененную чистую клетчатку, не могут быть отнесены к целлюлозным бактериям.

Для развития аэробных бактерий, разлагающих клетчатку, необходимо, чтобы клетчатка была достаточно влажной и хорошо аэрировалась. Создать такие условия можно, поместив фильтровальную бумагу на слой стеклянных бус (Gray and Chalmers), кварцевый песок (Krzemieniewska) или пластинки кремнекислого геля (Gescher, Виноградский, Bojanowsky, Waksman). Произведя сравнительную оценку этих способов, мы отдали предпочтение кремневым пластинкам, так как на них клетчатка увлажняется равномерно и менее быстро высыхает.

Питательные среды. В качестве основной среды применялся минеральный раствор Hutchinson и Clayton следующего состава: K_2HPO_4 1.0, $CaCl_2$ 0.1, $MgSO_4$ 0.3, NaCl 0.1, Fe_2Cl_6 0.01, $NaNO_3$ 2.5, дистиллированной воды 1000.0, pH среды 7.2—7.3. Этот раствор употреблялся для пропитывания фильтровальной бумаги, находящейся на пластинках, и для жидких сред с клетчаткой. Мел к среде не прибавлялся, так как аэробные целлюлозные бактерии прекрасно развиваются на субстратах без мела. Только в специальных опытах (при изучении продуктов разложения клетчатки) в среду вносилось 2% мела.

Целлюлозный агар. Употребляя вначале целлюлозный агар приготовленный из клетчатки, растворенной в серной кислоте, мы затем перешли к среде, содержащей ничем не обработанную измельченную целлюлозу. Для приготовления этой среды 5 г фильтровальной бумаги, разорванной на мелкие кусочки, обливается 200 см³ кипящей дестиллированной воды. Бумага переносится в ступку и возможно тщательно растирается. К измельченной клетчатке добавляется 800 см³ дестиллированной воды, необходимое количество солей для приготовления 1 литра среды Хетчинсона и 1% агар-агара.

Питательные среды без клетчатки. При изучении изолированных штаммов применялись следующие субстраты:

1) крахмальный агар. Его состав: солевой раствор Хетчинсона + 2% крахмала + 1% агар-агара;

2) среды с сахарами. К среде Хетчинсона добавлялись различные количества одного из сахаров и 1% агар-агара (употреблявшиеся сахара и их концентрации будут указаны ниже);

3) мясопептонный бульон;

4) мясопептонный агар;

5) сусло-агар;

6) картофель;

7) морковь.

Клетчатка. Для чашек Петри с кремневыми пластинками применялись обеззоленные круглые фильтры диаметром 9 см. В некоторых опытах из листа фильтровальной бумаги вырезались куски необходимой формы и размера. Качество бумаги влияет на скорость ее разложения бактериями. Так, обычная фильтровальная бумага в листах разрушается скорее, чем круглые фильтры. Все образчики фильтровальной бумаги, бывшие в нашем распоряжении, в том числе и фильтры Schleicher a. Schull. R. F. P. № 604 давали с иодом положительную реакцию на крахмал. При выяснении способности разлагать клетчатку у микроорганизмов, не ассимилирующих крахмала, это не могло иметь значения. Но по отношению к бактериям, утилизирующим не только целлюлозу, но и другие углеводы, примесь крахмала в бумаге могла привести к неправильным выводам. В виде контроля посевы таких форм производились на клетчатку, освобожденную от крахмала кипячением в течение 1 часа в насыщенном растворе хлористого кальция в присутствии уксусной кислоты.

Из других примесей, которые могут быть в фильтровальной бумаге, укажем на органический азот, количество которого даже в высококачественных фильтрах может достигать 0.018% (Gray и Chalmers).

Клетчатка в форме прозрачных пластинок целлофана, впервые примененного в микробиологии Krzemieniewska, была использована нами при изучении истории развития целлюлозных бактерий. Более подробно об этом будет сообщено ниже.

Применение твердых и жидких сред с клетчаткой чашки Петри диаметром в 10 см, содержащие хорошо промытые пластинки кремнекислого геля, стерилизовались при 110° в течение 20 минут. На поверхность геля накладывался круглый фильтр и увлажнялся 2—3 см³ среды Хетчинсона. Чашки с посевами сохранялись в эксикаторах, на дно которых была налита вода. Необходимо следить за тем, чтобы поверхность бумаги не высыхала, добавляя при первых признаках подсыхания 1—2 см³ питательной среды. Соблюдение этого условия так же, как и частые пересевы культур (не реже 2 раз в месяц), необходимы, так как иначе некоторые виды целлюлозных бактерий погибают.

Вся первая фаза исследований, включающая посевы почвы, получение обогащенных, а для некоторых видов — чистых культур, была осуществлена с помощью плотных сред. При дальнейших наблюдениях широко применялись жидкие среды. В некоторых случаях они имеют преимущества перед плотными субстратами. Так, при учете продуктов разложения клетчатки, особенно углекислого газа, изучении влияния различных веществ на развитие бактерий, хранении выделенных культур и некоторых других случаях жидкие субстраты более пригодны, чем твердые. Культивирование бактерий на жидких средах с клетчаткой производилось различным образом.

1. В пробирки наливалась среда Хетчинсона таким образом, чтобы столб жидкости имел высоту в 2.5—3.5 см. В среду наполовину погружались полоски фильтровальной бумаги размером 1 × 6—7 см. Посевной материал наносился на бумагу несколько выше уровня среды.

2. В колбы Эрленмейера вместимостью в 100 см³ помещался складчатый фильтр в виде конуса. Основание фильтра занимало почти всю площадь дна колбы, вершина достигала половины высоты колбы. Синтетическая среда наливалась в колбу тонким слоем, не превышающим 4—6 мм. Для получения больших количеств разложенной клетчатки посевы производились в большие плоскодонные колбы, на дне которых находилась плиссированная фильтровальная бумага. Для лучшей аэрации кусок бумаги складывался несколько раз, вершина каждой складки находилась выше уровня жидкости.

3. Разложение клетчатки изучалось также при посевах бактерий в цилиндры, содержащие синтетическую среду и широкую полосу фильтровальной бумаги, опущенную до дна цилиндра и сложенную таким образом, что ее поперечное сечение имело форму звезды. Эта бумажная полоса выступала на несколько сантиметров над уровнем среды, налитой в цилиндры. К этой методике мы прибегли в опытах с аэрацией среды.

4. Для выяснения способности бактерий разлагать клетчатку при ограниченном доступе кислорода посевы производились в пробирки, имеющие 1.5 см в диаметре и 20 см высоты и содержащие высокий слой (12—13 см) среды Хетчинсона. На дне пробирок находилось 6—7 кусочков фильтровальной бумаги 1.5 × 4 см величины. Для создания строго анаэробных условий воздух из этих пробирок выкачивался и последние запаивались.

Взятие материала для микроскопии и пересевов. Для этих целей применялись прямые и изогнутые на конце иглы, впаянные в стеклянные палочки. Иглы должны быть достаточно тонкими и острыми, что достигается периодическим оттачиванием их напильником. Манипулируя такими иглами, удается взять минимальное количество волокон целлюлозы из культуры, что имеет значение при получении очищенных культур. Прямые иглы могут служить для снятия материала, взятого изогнутой иглой. Некоторые виды целлюлозных бактерий в чистой культуре не развиваются при вне-

сении в среду небольших количеств посевного материала. В этих случаях иглой переносится небольшой комочек разложившейся бумаги. Для посевов в большое количество пробирок удобно пользоваться эмульсией клеток, которая получается при растирании в жидкой среде полуразрушенной клетчатки, взятой из старой культуры. Одинаковый объем такой эмульсии вносится пипеткой или большой петлей в серию пробирок.

Способы фиксации и окраски препаратов. Изучение морфологии микроорганизмов, особенно их истории развития, должно быть основано на наблюдениях за живыми неокрашенными клетками. Отдавая предпочтение живому материалу, мы широко пользовались также и окрашенными препаратами. Для этого небольшое количество разрушенных волокон клетчатки переносилось с помощью петли в каплю воды, находящуюся на покровном стекле. При помощи двух игл волокна тщательно разрыхлялись и в то же время распределялись по поверхности покровного стекла. Препарат высушивался при 35—40° и фиксировался спиртом, парами осмиевой или уксусной кислоты. Окраска производилась раствором метиленовой синьки (1 часть насыщенного спиртового раствора и 40 частей воды) в течение 30 секунд. Препараты промывались водой, высушивались и заделывались в канадский бальзам. Помимо метиленовой синьки окраска производилась также растворами основного фуксина, генцианвиолета, по Гимза, и железным гематоксилином Гейденгайна. Наиболее часто встречающиеся бактерии, разлагающие клетчатку (представители рода *Cytophaga* и *Cellvibrio*), хорошо окрашиваются всеми вышеперечисленными красками. Что касается жгутиков, то их окрашивание производилось по классическому способу Леффлера.

Получение обогащенных культур

Исходным моментом в работе явилось выделение обогащенных культур целлюлозных бактерий. Для этого частицы почвы наносились на поверхность фильтровальной бумаги, находящейся на кремневой пластинке и увлажненной минеральной средой. Через 2—3 дня при 28° на бумаге вокруг почвенных частиц появились цветные пятна различных оттенков желтого, оранжевого или зеленого цвета (табл. 2, рис. 1). Возникающие пятна отличались друг от друга не только окраской,— часть из них имела диффузные границы и матовую поверхность; такие пятна быстро увеличивались в своих размерах. Для другой группы пятен был характерен более медленный рост, довольно резкие границы и слизистая блестящая поверхность. При микроскопии бумаги, взятой из этих пятен, легко обнаруживались целлюлозные бактерии, находящиеся в отдельных волокнах клетчатки, в большей или меньшей степени разрушенных. Развити

целлюлозных бактерий не всегда сопровождается появлением окрашенных зон на фильтровальной бумаге. Существуют бесцветные, не образующие пигмента формы, так же интенсивно разрушающие клетчатку. Начало их роста на бумаге не легко заметить, и, только просматривая чашки при проходящем свете, можно обратить внимание на слегка просвечивающие участки в бумаге.

Микробный ландшафт окрашенных и бесцветных пятен — это своеобразный ценоз, состоящий из различных микроорганизмов. Помимо разнообразных бактерий нередко обнаруживаются *Protozoa*, захватывающие бактерий, в том числе и целлюлозных. В более старых или подсохших пятнах встречались протисты уже в инцистированном состоянии. Несмотря на довольно пестрый состав микроорганизмов, поражало отсутствие актиномицетов и грибов. Последние, если и появлялись, то несколько позже возникновения пятен, связанных с развитием бактерий, разлагающих клетчатку.

При выделении целлюлозных бактерий различная окраска цветных пятен на клетчатке дает возможность ориентироваться в начальных стадиях исследования. Но, как выяснилось в дальнейшем, этот признак имеет относительное значение, так как не всегда появление окрашенных зон связано с развитием определенного вида целлюлозной бактерии. Возможны следующие случаи: 1) цвет пятна зависит от пигментных сопутствующих бактерий, не разлагающих клетчатки и развивающихся на участках бумаги, разрушенных бесцветными целлюлозными бактериями; 2) на бумаге одновременно размножается два вида бактерий, разлагающих клетчатку; один из них бесцветный, другой образует пигмент; 3) среди бактерий, находящихся в окрашенном пятне, имеются пигментные формы как целлюлозных, так и сопутствующих организмов.

Такое «наслоение пигментов» не составляет правила, но так как в процессе работы с ним приходится сталкиваться, мы сочли необходимым на нем остановиться.

Микрофлора цветных и бесцветных зон в периферических и центральных своих частях неоднородна. В крае пятна находятся почти исключительно бактерии, проникающие в волокна целлюлозы и, в зависимости от вида, разрушающие их то более, то менее интенсивно. Чем ближе к центру взят материал для микроскопии, тем чаще в нем встречаются посторонние бактерии, преимущественно мелкие бесспоровые палочки. Таким образом бактерии, разлагающие клетчатку, идут впереди, и только после их развития, т. е. после того, как клетчатка уже разлагается, начинают появляться сопутствующие микроорганизмы. Этот вывод, основанный на данных микроскопии, подтвердился полностью при посевах волокон клетчатки, взятых из периферических и центральных частей пятна, на обычные среды (мясопептонный агар). Высевы из края пятен всегда

давали значительно меньшее количество колоний посторонних бактерий, чем посевы из участков, удаленных от периферии пятна. Этим обстоятельством мы и воспользовались для получения очищенных культур, т. е. таких, которые помимо целлюлозных бактерий содержат, как правило, не более одного постороннего вида.

Получение очищенных культур

Такие культуры могут быть получены путем повторных пересевов из молодых цветных пятен. Пересев осуществляется с помощью иглы, причем материал необходимо брать у самого края пятна, стараясь взять волокна бумаги из неокрашенных еще участков, примыкающих непосредственно к краю пятна. Волокна клетчатки, взятые из наружной бесцветной зоны, уже содержат целлюлозные бактерии. Обычно после двух или трех отсевов на кремневые пластинки с фильтровальной бумагой можно получить очищенную культуру. Посевы такой культуры на обычные среды выясняют, в какой мере удалось освободиться от сопутствующих бактерий.

Выделение чистых культур

Прежде чем перейти к описанию методов выделения чистых культур, перечислим те требования, которым должны удовлетворять такие культуры. Для целлюлозных бактерий, относимых к *Cytophaga,* они будут следующими:

1. Развитие бактерий должно происходить только на средах с клетчаткой. Посевы на субстраты с другими углеводами или на общеупотребительные лабораторные среды должны оставаться стерильными. Особенное значение здесь имеют посевы на крахмальный агар, так как в почве имеются бактерии, развивающиеся на этой среде и не дающие роста на мясопептонном агаре.

2. При посеве культуры в минеральную среду с целлюлозой и содержащую 0.3% глюкозы не должно происходить ни разложения клетчатки, ни развития как целлюлозных, так и сопутствующих бактерий.

3. Детальная микроскопия культуры, произведенная в различные периоды ее развития, должна подтвердить ее однородность и чистоту. Такой морфологический анализ необходим не для обнаружения бактерий-спутников (их присутствие легко может быть доказано посевами на другие среды), а для тех возможных случаев, когда в культуре имеется два вида целлюлозных бактерий, способных развиваться только на клетчатке.

Перейдем к описанию способов, которые были применены для получения чистых культур *Cytophaga.*

Метод разведений. Из очищенных культур некоторое количество разлагающейся клетчатки переносилось в пробирку, содержащую 1 см³ среды Хетчинсона. Клетчатка тщательно растиралась и из полученной эмульсии готовились последовательные разведения. Обычно из 8, 9 или 10 разведения 1 см³ переносился в пробирки с синтетической средой и фильтровальной бумагой. Значительное количество произведенных посевов выяснило, что получить таким путем необходимое разведение возможно, так как развитие *Cytophaga* наблюдалось только в небольшом количестве пробирок. Но выраставшие культуры постоянно содержали бактерию-спутника.

Метод многократных пересевов из края пятна. Выше уже указывалось, что в периферических частях окрашенных пятен очень мало посторонних бактерий. Однако повторные пересевы минимальных количеств клетчатки из края молодых пятен не дают возможности освободиться полностью от сопутствующих организмов.

Посевы на целлюлозный агар. На этой среде *Cytophaga* не образует изолированных колоний, развиваясь с самого начала вдоль волокон в виде едва заметных тяжей. Отсев из них всегда давал только смешанные культуры.

Посевы стерильных участков агара. Этот способ является применением к целлюлозным бактериям общеизвестной методики Виноградского, предложенной им для выделения нитрифицирующих бактерий. На чашку Петри с мясопептонным агаром производился посев очищенной культуры *Cytophaga*. Через двое суток на агаре вырастали колонии бактерии-спутника. Находящиеся между ними участки агара вырезались стерильным скальпелем и переносились в колбы с фильтровальной бумагой и средой Хетчинсона. Колбы применялись большие, так как внесение агара в незначительное количество минеральной среды могло бы помешать развитию *Cytophaga*. По этим же соображениям иногда производилось только тщательное обмывание вырезанных кусочков агара и посев одной жидкости.

Часть таких посевов оставалась совершенно стерильной, в некоторых колбах вырастали только сопутствующие бактерии. Это может быть объяснено нахождением на поверхности «стерильного» агара единичных жизнеспособных клеток, размножившихся при переносе их в жидкую среду. Таким образом с помощью этой методики чистые культуры *Cytophaga* не были выделены.

Нагревание культуры. В очищенных культурах *Cytophaga* сопутствующие бактерии относятся к неспороносным видам; в цикл же развития некоторых видов *Cytophaga* входит образование микроцист. Можно было ожидать, что микроцисты окажутся более устой-

чивыми к высокой температуре, чем бактерии-спутники, и что, подвергая очищенную культуру нагреванию, удастся освободиться от сопутствующих организмов. Это предположение оправдалось, и таким путем были получены две чистые культуры *Cytophaga*. Даем описание применявшейся методики.

В пробирку, содержащую 7—8 см³ стерильной водопроводной воды, вносился кусочек разрушенной фильтровальной бумаги, взятой из старой очищенной культуры *Cytophaga*. Бумага растиралась стеклянной палочкой на стенке пробирки и полученная таким путем равномерная эмульсия разливалась по 5 см³ в пробирки. Последние помещались в водяную баню и нагревались в течение 10 мин. при различных температурах. Термометр помещался внутри контрольной пробирки, содержащей 5 см³ воды и погружаемой в горячую воду одновременно с другими пробирками. Непосредственно из водяной бани пробирки с эмульсией переносились в холодную воду, а затем из каждой пробирки производился посев в серию пробирок со средой Хетчинсона. Так как устойчивость микроцист к нагреванию у различных видов *Cytophaga* может быть неодинаковой, то вначале необходимо точно установить температуру, при которой наступает полная гибель микроцист. В дальнейшем эмульсию клеток нагревают до температуры более низкой, чем летальная, на 2—4°. Следуя этому принципу, мы выделили чистую культуру одного вида *Cytophaga*; при посеве эмульсии, нагретой до 56°, микроцисты этого организма погибали при 58°. Другой вид *Cytophaga* был изолирован в чистом виде после нагревания до 66°, тогда как летальная температура для микроцист была 68 . Продолжительность действия во всех случаях 10 мин.

Терморезистентность микроцист *Cytophaga* значительно меньшая, чем бактериальных спор, поэтому температурные точки гибели микроцист и посторонних микроорганизмов лежат близко друг от друга. Этим и объясняется, что шансы получить чистую культуру высоки только в тех случаях, когда рост *Cytophaga* наблюдается в одной-двух из пяти-шести пробирок с посевами. Иногда после первого прогревания погибают не все клетки спутника и бывает необходим вторичный прогрев, во время которого окончательно убиваются все сопутствующие бактерии.

Таким образом из всех вышеописанных способов только нагревание культур дало возможность получить чистые культуры *Cytophaga*, образующие микроцисты. Что же касается видов *Cytophaga*, вегетативные клетки которых не превращаются в микроцисты, то, естественно, этот метод к ним не применим.

Выделение чистых культур вибрионов. Эти микроорганизмы резко отличаются от группы *Cytophaga* по целому ряду признаков, среди которых способность давать изолированные коло-

нии на плотных средах облегчает выделение их в чистую культуру. Посевы обогащенной культуры производятся на чашки с целлюлозным или крахмальным агаром. Сопутствующие бактерии на крахмальном агаре развиваются раньше, и рост их обильнее, чем вибрионов, поэтому на чашках необходимо внимательно отыскивать мелкие колонии *Cellvibrio*. Хотя среди вибрионов и имеются формы, растущие на мясопептонном агаре, прибегать к выделению чистых культур на этой среде не следует, так как посторонние микроорганизмы быстро заглушают рост вибрионов. Появившиеся на плотной среде колонии *Cellvibrio* отсеваются в пробирки со средой Хетчинсона и полосками фильтровальной бумаги. Изолированные культуры сохраняются на жидких средах, так как вибрионы довольно быстро погибают при подсыхании плотных сред.

Перейдем к описанию целлюлозных бактерий, изолированных из почвы.

Миксобактерии, разлагающие клетчатку

Обрабатывая материал, собранный экспедицией Академии Наук в Заволжье, один из нас (Имшенецкий) выделил несколько бактерий, разлагающих клетчатку. Среди них один вид развивался на фильтровальной бумаге с образованием пятен оранжевого цвета. Морфологические признаки этого организма были столь своеобразны, что его нельзя было отнести ни к *Cytophaga* ни к *Cellvibrio*. Культивируя очищенный штамм этой бактерии на кремневых пластинках с фильтровальной бумагой, пропитанной средой Хетчинсона, мы имели возможность изучать в течение 14 месяцев ее строение и цикл развития. В течение всего этого периода данный организм сохранял способность разлагать целлюлозу. Даем его описание.

Морфология. Толстые, подвижные, иногда слегка дугообразно изогнутые палочки с закругленными концами. Их размеры 0.8—1.2 $\mu \times$ 3.5—8.5 μ (фиг. 1). Подвижность незначительная, бактерии обладают плавным поступательным движением в жидкости. Жгутиков нет. В молодых, более коротких палочках содержится одно хромофильное зерно, в более удлиненных клетках таких телец два (фиг. 2). Бактерии в периферических частях окрашенного пятна на бумаге находятся исключительно в волокнах клетчатки; в самом крае пятна имеются единичные клетки (фиг. 3), несколько отступя от края к центру волокна сплошь набиты палочками.

История развития. В центральных частях оранжевого пятна палочки неподвижны и лежат не только в волокнах, но и между ними, образуя большие скопления, окрашенные в бледнооранжевый цвет. Бактерии, образующие такой псевдоплазмодий, постепенно укорачиваясь и утончаясь, уменьшаются в своих размерах до 0.7—0.9 $\mu \times$ 3.4—5.6 μ. Затем в этих «бактериальных полях» проис-

ходит концентрация клеток в определенных участках. Палочки, прилегая все теснее и теснее друг к другу, образуют скопления округлой или овальной формы. Периферический слой клеток, отграничивающий эти образования от остальной массы бактерий, превращается в оболочку, и таким путем возникают цисты, окрашенные в оранжевый цвет (фиг. 4). Их размер колеблется от 8 до 42 μ, чаще они имеют 20—25 μ в диаметре. В центральных частях более крупных цист иногда помимо бактерий обнаруживаются капли жира, достигающие 1.5—3.5 μ. Цисты, обработанные серной кислотой, легко раздавливаются между предметным и покровным стеклом. Содержащиеся в них палочки имеют еще меньшие размеры (0.7—0.8 μ × 2.2—3.5 μ, чем в ранее описанных скоплениях. Таким образом в процессе образования цист происходит дальнейшая контракция бактериальной клетки. Группируясь, цисты образуют плодовые тела овальной или грушевидной формы 40—55 μ × 110—160 μ величины, окрашенные в красновато-коричневый цвет. Плодовое тело покрыто тонкими, концентрически расположенными пластинками подсохшей слизи. В каждом плодовом теле содержится 12—40 цист, которые в результате давления друг на друга приобретают полигональную форму (фиг. 5). Специальных цистофоров («ножек») у органов плодоношения нет, но последние иногда заключены в слизистые тяжи, имеющие слоистое строение. Наблюдается также четковидное расположение отдельных цист в тяжах слизи. При посеве цист на фильтровальную бумагу снова возникают окрашенные пятна, в которых волокна клетчатки содержат вегетативные палочки.



Фиг. 1—5

Характер роста на клетчатке. Развиваясь на фильтровальной бумаге, бактерия образует крупные оранжевые пятна с влажной блестящей поверхностью, постепенно увеличивающиеся в своих размерах. У более старых крупных пятен в оранжевый цвет окрашена только их периферия в виде яркой, иногда крупно фестончатой каемки, центр же пятна имеет темнокоричневую окраску. Потемнение центральных частей происходит параллельно с образованием цист и созреванием плодовых тел. Одновременно меняется и рельеф окрашенного пятна; периферия его ровная, гладкая, в более же старых, темнее окрашенных центральных частях, появляются мелкие возвышения, видимые невооруженным глазом —

скопление плодовых тел. Таким образом развитие микроорганизма на бумаге сопровождается образованием нескольких постепенно переходящих друг в друга концентрических зон и каждой из них соответствует определенная стадия в истории развития целлюлозной бактерии. Чем ближе к центру, тем старше колония и тем больше плодовых тел.

Проникая в волокна клетчатки и размножаясь, палочки располагаются несколькими слоями, охватывающими волокна со всех сторон. Последние утрачивают свой блеск, их контуры становятся неровными, в дальнейшем происходит частичный или полный лизис волокон. Участки бумаги, в которых произошло разрушение волокон, становятся прозрачными и через них просвечивает гель. На табл. II, *2* изображена старая колония на бумаге, имеющая три зоны: наружную в виде окрашенной каемки, далее, зону разрушенной клетчатки и центральную часть, состоящую из плодовых тел.

Изолированная бактерия-аэроб, ее температурный оптимум роста лежит между 18° и 22°. При 30° развитие происходит значительно медленнее. Размножение клеток возможно только на влажной клетчатке, при ее подсыхании, хотя бы и незначительном, развитие прекращается. На обычных средах бактерия не дает роста, также не происходит размножения клеток в висячей капле бульона.

Цикл развития этого организма полностью соответствует тем изменениям, которые наблюдаются у *Myxobacteriales*. Укорочение палочек перед образованием плодовых тел, состоящих из цист, и некоторые другие признаки характерны для рода *Polyangium*. Бактерии, краткая характеристика которой была приведена выше и принадлежность которой к миксобактериям очевидна, мы присваиваем название *Polyangium cellulosum* nov. sp.

Перейдем к описанию других изолированных из почвы целлюлозных бактерий.

Cytophaga Hutchinsonii Winogr.

(*Syn. Spirochaeta cytophaga* Hut. a. Cl., *Cyt. myxococcoides* Krz., *Cyt. globulosa* St. u. Bort.)

Выделена в чистой культуре из почвы Ботанического сада МГУ.

Морфология и цикл развития

Молодые формы. Тонкие, изогнутые, постепенно утончающиеся к концам палочки величиной 0.3—0.4 $\mu \times$ 4.5—6 μ. Оба конца палочек заостренные. Кривизна палочек преимущественно S образная, иногда слабо выраженная. Наиболее типичные клетки изображены на табл. I, *1*. Плазма клеток гомогенная, матовая без включений. Иногда клетки изогнуты дугообразно, в виде подковы или буквы U, но такие

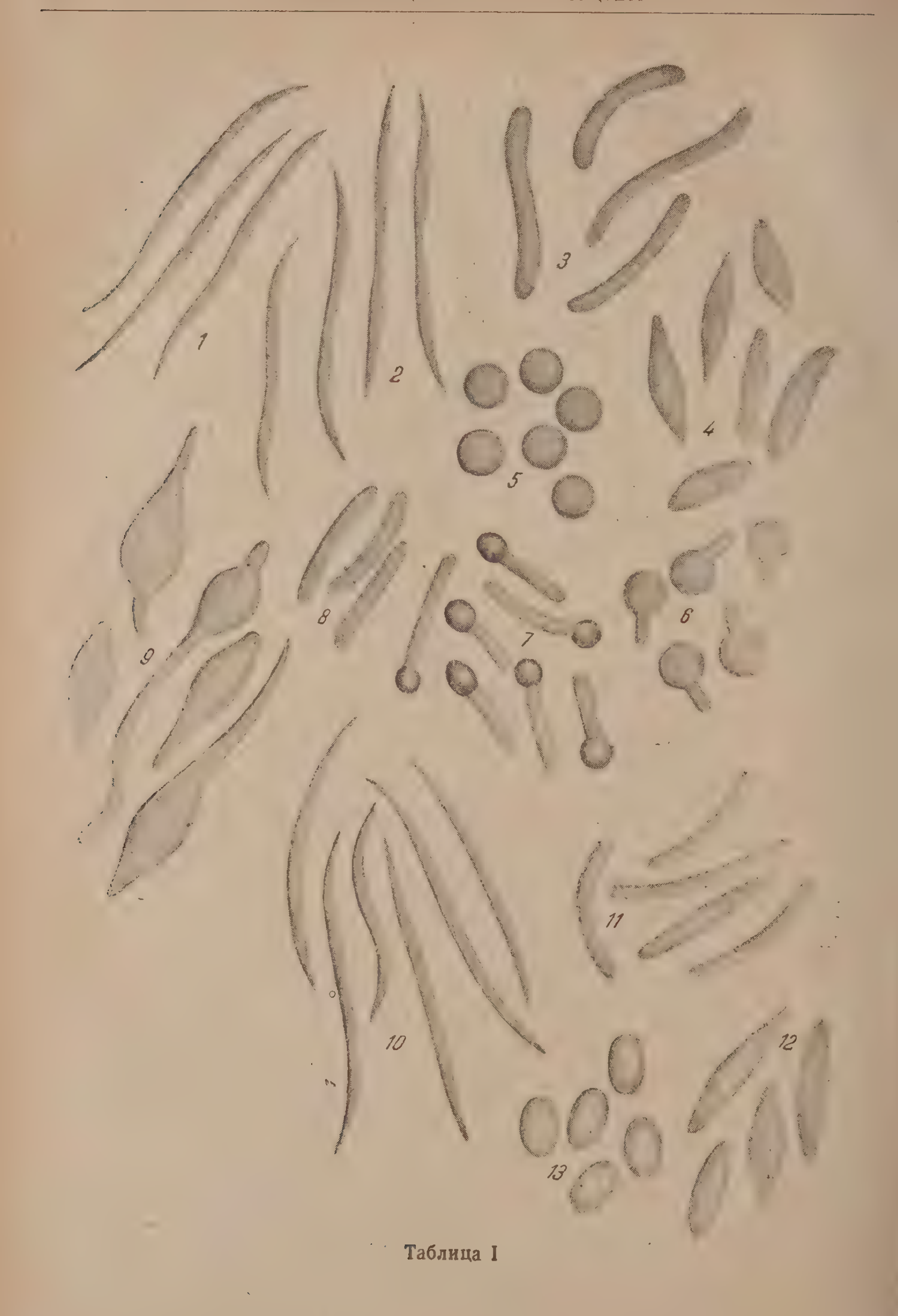


Таблица I

формы встречаются относительно редко. Контуры молодых *Cytophaga* совершенно ровные, никаких зерен или почек на поверхности клеток нет. Размножение клеток происходит без образования поперечных перегородок. Средняя часть клетки постепенно перетягивается, причем сужению подвергается довольно значительный участок (табл. I, *2*). В результате такой перетяжки оба конца дочерних клеток имеют заостренную форму. Молодые клетки активно подвижны. Движение *Cytophaga* хорошо заметно на пластинках целлофана, увлажненных средой Хетчинсона. Характер подвижности различный — чаще это плавное поступательное движение, сопровождающееся колебанием всей палочки. Реже наблюдается сгибание одного из концов клетки. Подвижность хорошо заметна при 25—28°, при понижении температуры она становится медленнее и затем прекращается совершенно. Жгутики у *Cytophaga* отсутствуют.

Переходные формы. Через различные сроки (от 24 до 48 час., в зависимости от условий культивирования) молодые клетки подвергаются следующим изменениям. Палочки укорачиваются, становясь при этом несколько толще. Обычное у молодых форм постепенное утончение концов клетки исчезает и полюса делаются закругленными. Большинство таких клеток слегка изогнуто, как это видно на табл. I, *3*. В дальнейшем эти клетки будут обозначаться как переходные формы первого порядка. Укорачиваясь и утончаясь, они превращаются в клетки, имеющие вид веретена или ромба с закругленными углами (табл. I, *4*). Размеры таких клеток 1 μ × 2.5—3 μ. В их центре имеется матовое, видимое без окраски зерно. В этих стадиях своего развития *Cytophaga* перестает быть подвижной.

Переходные формы второго порядка изменяют свою конфигурацию, становясь все более и более округлыми. Этот процесс контракции сопровождается постепенным уменьшением длины и одновременным увеличением поперечника клетки.

Микроцисты. Возникающие таким путем микроцисты — это слегка блестящие, правильной шаровидной формы образования, имеющие 1.5 μ в среднем в диаметре (табл. I, *5*). Поверхность их совершенно ровная, гладкая и покрыта тонким слоем слизи, вследствие чего микроцисты лежат иногда соединенными друг с другом или образуют короткие цепочки, несколько напоминающие стрептококков. Возникшие микроцисты не способны ни к делению, ни к почкованию. Они могут только прорастать при помещении их в свежую среду. В старых культурах ни прорастания, ни самопроизвольного лизиса микроцист не происходит. Не все клетки *Cytophaga* превращаются в микроцисты, — некоторое количество их не переходит в эту покоящуюся стадию. Но эти формы не имеют внешнего вида, характерного для молодых клеток. Это уже не тонкие заостренные палочки, а более короткие, слегка изогнутые, с закругленными кон-

цами клетки. Они имеют большое сходство с переходными формами первого порядка и возможно, что часть клеток *Cytophaga* начинает превращаться в микроцисты, но этот процесс не заканчивается.

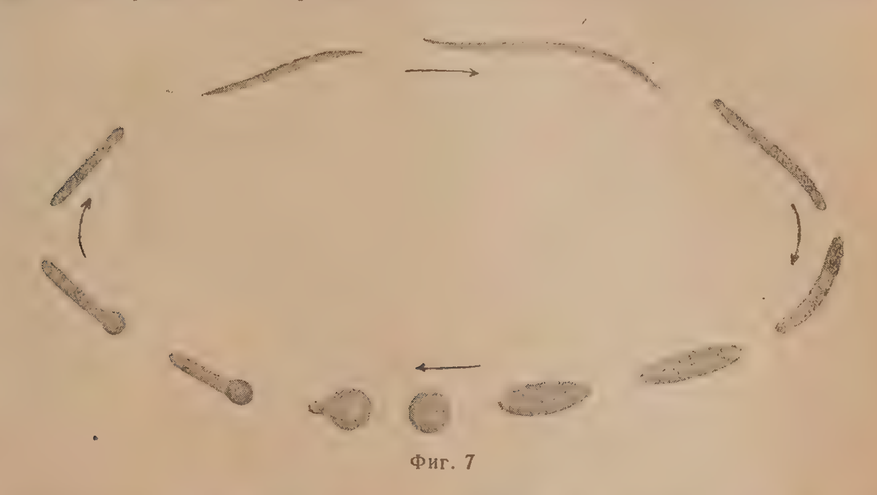
Образование микроцист происходит постепенно; поэтому в препарате легко могут быть обнаружены одновременно различные формы: молодые клетки, переходные формы первого и второго порядка и вполне сформировавшиеся микроцисты (фиг. 6).

Прорастание микроцист. Для изучения прорастания микроцист применялись стерильные кусочки целлофана 5×7 мм величины. Такие влажные кусочки целлофана в количестве 4—6 помещались в чашки Петри с кремневыми пластинками. На поверхность целлофана наносилось небольшое количество эмульсии, приготовленной из старой культуры *Cytophaga*; после распределения материала на поверхности кусочка последний увлажнялся с помощью большой петли средой Хетчинсона. Чашка Петри помещалась в термостат при 25° и, спустя различные сроки, производилась микроскопия целлофана. При этой методике микроцисты прорастают через 3—5 час. Менее постоянные результаты получаются при проращивании микроцист на целлофане, помещенном на тонкий слой среды Хетчинсона с агаром, нанесенным на покровное стекло. Последнее затем укрепляется вазелином на предметном стекле с луночкой. Этот способ имеет также тот недостаток, что клетки, находясь под слоем агара и целлофана, видны недостаточно отчетливо.

Для начальных стадий прорастания микроцист характерно появление удлиненного проростка, как это изображено на табл. I, *6*. Постепенно вытягиваясь в длину, этот проросток превращается в палочку. При этом происходит одновременное уменьшение микроцисты, ее наружные слои сохраняются в виде блестящего шаровидного образования, находящегося на одном из концов палочки (табл. I, *7*). В этот момент прорастания видны многочисленные преломляющие свет кокковидные тельца, размер которых колеблется от 0.4—0.9 μ, и отходящие от них слегка изогнутые палочки. Таким образом при прорастании происходит не выхождение клетки из микроцисты, а непосредственное превращение последней в палочку. Оболочка микроцист по мере перехода ее содержимого в молодую вегетативную клетку спадается и приобретает вид коккообразного блестящего тельца, которое затем постепенно растворяется. Возникшие из микроцист палочки короткие и не имеют заостренных концов (табл. I, *8*), но вскоре они приобретают типичную для молодых *Cytophaga* форму. Размножение *Cytophaga* на кусочках целлофана происходит быстро и сопровождается появлением желтого блестящего налета. В этих культурах на целлофане можно проследить за образованием переходных форм первого и второго порядка и превращением последних в микроцисты.

Весь цикл развития *Cytophaga Hutchinsonii* схематично изображен на фиг. 7.

Образование псевдоплазмодия. Клетки *Cyt. Hutchinsonii* в культурах не всегда лежат изолированно, без всякой связи друг с другом. Нередко они соединяются, группируются, образуя скопления округлой или овальной формы, величина которых колеблется от 12 до 30 μ. Такие «клубки» состоят преимущественно из переходных форм первого и второго порядков, их центр наиболее компактен, периферия же более рыхлая и образована отдельными клетками. Иногда в этих



Фиг. 7

скоплениях обнаруживаются единичные микроцисты, но полного превращения всех элементов скопления в шаровидные формы покоя, которое привело бы к образованию плодового тела, не происходит (фиг. 8). В более молодых культурах клетки располагаются в виде «звезд», образованных молодыми формами. Последние лежат таким образом, что их концы сходятся в одной точке, тогда как сами клетки расходятся от этого центра в виде радиусов. Возможно, что такое расположение является начальной стадией образования больших скоплений. Способность клеток соединяться друг с другом, давая при этом псевдоплазмодий, состоящий не из вегетативных, а из переходных форм, нельзя не признать за одну из особенностей истории развития *Cytophaga Hutchinsonii*.

Рост на клетчатке. Развитие *Cyt. Hutchinsonii* на кремневых пластинках с бумагой сопровождается появлением желтого пятна, медленно увеличивающегося в своих размерах и имеющего довольно резкие границы. Поверхность пятна быстро становится блестящей, влажной, слизистой. В более старых культурах центральные части пятна превращаются в тонкую бесструктурную, почти бесцветную пленку, через которую просвечивает гель. Бумага в этих участках

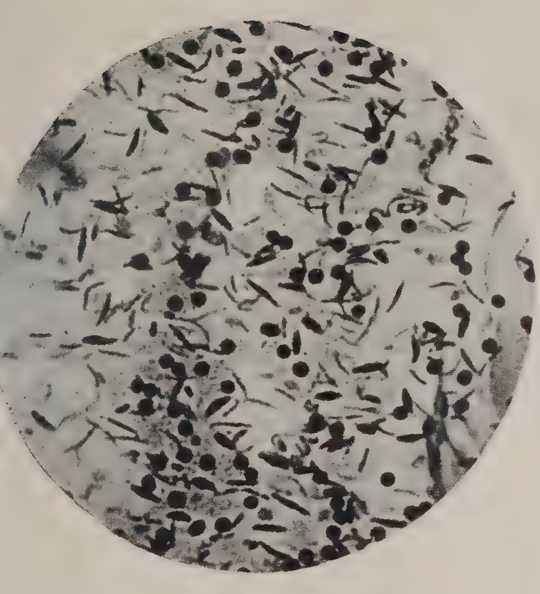
полностью разрушена. На полосках фильтровальной бумаги, погруженной в среду, появляются на уровне жидкости желтые полоски, постепенно становящиеся более широкими. Бумага обычно не разрывается на уровне среды, а как бы «заменяется» на большем или меньшем протяжении прозрачной тонкой пленкой. Этот признак характерен для *Cytophaga*, так как представители рода *Cellvibrio* быстро разрушают клетчатку на уровне жидкости полностью и полоска бумаги разрывается. В колбах с фильтрами развитие *Cytophaga* также происходит, главным образом, на границе с жидкостью. Но отдельные желтые пятна могут возникать и в более высоких частях фильтра (табл. II, *3*). Для старых культур характерно оседание фильтра, его пожелтение и превращение клетчатки в слизистую прозрачную массу.

На целлюлозном агаре отдельные колонии не образуются. Микроскопия чашек в самом начале роста выяснила, что размножение клеток происходит вдоль отдельных волокон клетчатки, которые приобретают слабую желтую окраску. Характер дальнейшего роста,— стелющийся, захватывающий все новые и новые участки агара. Вследствие разложения клетчатки старые участки пятна становятся темнее, чем окружающая их белая среда. Такие темные «поля» окаймлены желтой полоской — зоной активного размножения *Cytophaga*. Консистенция самого агара не изменяется. Пятна не опускаются вглубь в результате разжижения агара, как это обычно происходит при развитии бактерий, разлагающих агар.

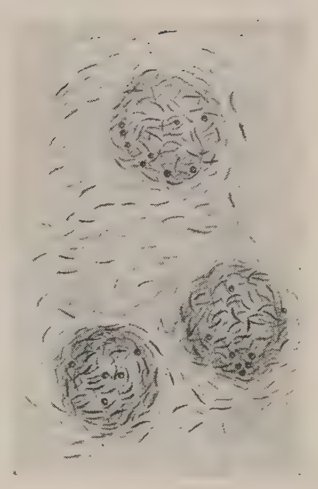
Рост на других средах. Были произведены посевы на следующие среды: мясопептонный агар, бульон, мясопептонная желатина, сусло-агар, крахмальный агар, агар с декстрином, картофель и морковь. Во всех случаях посевы остались стерильными. На среде Хетчинсона с добавлением 1% агар-агара и одного из следующих веществ: глюкозы (0.1%), левулезы (0.01%), мальтозы (0.1%), галактозы (0.05%), сахарозы (1.5%), ксилозы (0.01%), арабинозы (0.01%), молочнокислого кальция (0.2%), уксуснокислого калия (0.2%), — также не было роста. Указанные концентрации основаны на результатах опытов по влиянию этих соединений на разложение клетчатки (об этих исследованиях см. ниже).

Таким образом *Cytophaga Hutchinsonii* не способна развиваться на средах с этими источниками углерода, и ее рост возможен только в присутствии клетчатки.

Как реагируют клетки *Cytophaga* на такое казалось бы индиферентное вещество, как глюкоза? Под влиянием глюкозы происходит резкая деформация клеток — они или полностью превращаются в «баллоновидные» раздутые формы, или такие вздутия появляются на одном из концов клетки. Одновременно возникают булавовидные формы, или утолщенные клетки с перетяжками. Табл. I, *9* дает пред-



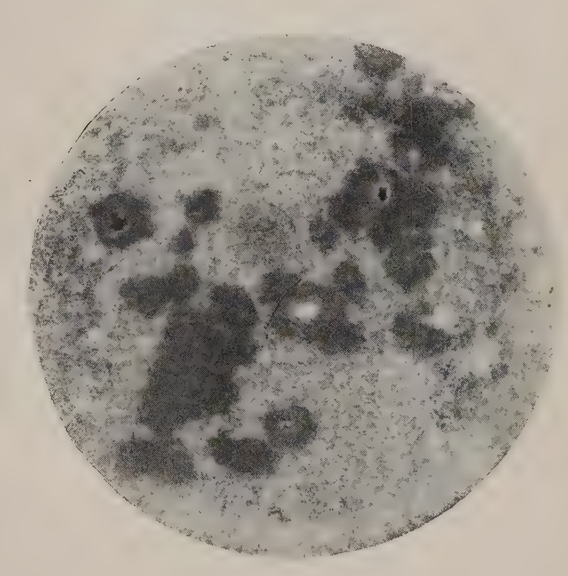
Фиг. 6.



Фиг. 8.



Фиг. 9.



Фиг. 10.

ставление об изменениях внешнего вида клеток *Cytophaga* под влиянием глюкозы. Не остается никаких сомнений в том, что глюкоза действует как токсическое вещество, вызывая значительные изменения в структуре бактерий.

Рост при различных температурах. Отношение к температуре выяснялось путем посевов в пробирках с полосками фильтровальной бумаги, сохранявшихся при различной температуре. При 15° видимое развитие наступало на 4-й день, при 22° — на 3-й день, при 28° — на 2-й день и при 37° — на 4-й день. Рост при 37° наблюдался не во всех пробирках и был значительно слабее, чем при 15°.

Устойчивость к высокой температуре. Водная эмульсия культуры, содержащая микроцисты, подвергалась десятиминутному нагреванию в водяной бане при 54°, 56°, 60°, 64°, 66°, 68° и 72°. Полная гибель всех микроцист происходит при 68°. При посевах взвеси клеток, подвергавшейся нагреванию до 64° или 66°, развитие *Cytophaga* происходило только в некоторых пробирках. Еще более низкие температуры не убивали микроцист, но появление желтых пятен на бумаге запаздывало в этих посевах на несколько дней по сравнению с контролем.

Влияние высушивания. Культуры *Cyt. Hutchinsonii*, имеющие наряду с вегетативными клетками и микроцисты, устойчивы к высыханию. Кусочки полуразрушенной бумаги, высушенные при комнатной температуре и сохранявшиеся в высушенном состоянии в течение 21, 45 и 90 дней, при посеве их в среду дали хороший рост во всех пробирках.

Разрушение отдельных волокон клетчатки. Выше был описан жизненный цикл *Cytophaga Hutchinsonii* вне связи с теми отношениями, которые существуют между клетками бактерий и волокнами фильтровальной бумаги. Рассмотрим, как проникает *Cytophaga* в волокно и какими изменениями волокон сопровождается процесс разложения целлюлозы. В самых начальных стадиях разложения в волокнах обнаруживаются единичные молодые формы *Cytophaga* (фиг. 9.) Интенсивно размножаясь, они захватывают всю поверхность волокна, располагаясь параллельно его оси или несколько наискось, но никогда не поперечно. Клетки *Cytophaga* по своей форме являются наиболее приспособленными к структуре волокон целлюлозы. Размножение палочек происходит неравномерно: в одних участках волокна имеются вытянутые тяжи из тесно прилегающих друг к другу молодых форм, в некоторых местах последних значительно меньше и они лежат изолированно. Развитие *Cytophaga* сопровождается послойным разрушением волокна, причем слои клеток, лежащие снаружи, как более старые, раньше начинают давать переходные формы, которые затем превращаются в микроцисты. Волокна целлюлозы утрачивают свой блеск, становятся

матовыми, рыхлыми, их контуры делаются неровными, изъеденными и они как бы тают под влиянием *Cytophaga*. При далеко зашедшем разложении остается тонкая полоска — остаток волокна, окрашенный со всех сторон слизью и микроцистами. На этом процесс не останавливается, он идет дальше, волокна полностью исчезают, и клетчатки как таковой уже нет. Вместо нее остается слизистый слоистого строения тяж, в котором заключены клетки *Cytophaga*, находящиеся преимущественно в стадии микроцист. Итак, целлюлоза может быть полностью разложена одним видом бактерии в чистой культуре, без участия других микроорганизмов — бактерий, актиномицетов или грибов.

Это литическое действие возможно только при непосредственном контакте бактерий с волокнами клетчатки, оно протекает быстро и приводит к накоплению бактериальных клеток и продуцируемой ими слизи.

Распространение. Микроскопия волокон клетчатки из желтых пятен, столь часто появляющихся при посевах, позволяет притти к выводу, что *Cytophaga Hutchinsonii* относится к широко распространенным целлюлозным бактериям. Особенно много ее в хорошо удобренных почвах, где она доминирует над другими формами. Однако для окончательного диагноза необходимо установить образование микроцист, так как существуют виды *Cytophaga*, также дающие желтые пятна, но не имеющие этой стадии покоя.

Cytophaga Hutchinsonii — космополит. Ее изолировали из почвы в Англии (Hutchinson a. Clayton), в США (Dubos), во Франции (Виноградский), в Польше (Krzemieniewska, Judowicz), в Германии (Stapp u. Bortels), в СССР (Исаченко и Вакенгут, Рокицкая).

Как известно, эта целлюлозная бактерия впервые была описана Hutchinson a. Clayton под именем *Spirochaeta cytophaga*. Однако весь комплекс признаков этого организма противоречит нашим представлениям о спирохетах, и Виноградский, исходя из этого, создал новый род *Cytophaga*, объединяющий несколько изолированных им форм. Повидимому, одной из наиболее распространенных бактерий, относящихся к этой группе, является *Cytophaga* с шаровидными микроцистами, образующая желтые пятна на бумаге. Мы сохраняем за ней название *Cytophaga Hutchinsonii*, присвоенное ей Виноградским, так как последующие обозначения (Krzemieniewska, Stapp u. Bortels) были предложены позднее.

Сопоставим наши наблюдения по истории развития с исследованиями других авторов. Первая фаза цикла — превращение палочки с заостренными концами в шаровидные формы покоя (микроцисты), наблюдалась всеми изучавшими этот микроорганизм (Hutchinson a. Clayton, Krzemieniewska, Рокицкая, Исаченко и Вакенгут, Stapp u. Bortels). Обнаруживая постоянно в культурах *Cytophaga* круглые

формы, Виноградский считал их за посторонние кокки, не способные разлагать целлюлозу и развивающиеся уже после размножения *Cytophaga* в культуре. Исследования вышеуказанных авторов этого не подтвердили, появление этих форм всегда связано с жизненным циклом организма.

Если в отношении первой фазы цикла развития *Cytophaga* теперь уже не существует разногласий, то этого нельзя сказать о дальнейшей судьбе возникших микроцист. Процесс прорастания последних по Krzemieniewska заключается в том, что палочки выходят из микроцист, оболочки которых остаются свободно лежащими в виде чехликов. Исаченко и Вакенгут наблюдали внутри прорастающих микроцист (спороидов) интенсивно красящиеся клетки, имеющие форму кольца, которые в дальнейшем становились свободными. Наконец, третий описанный способ прорастания микроцист — ее постепенное вытягивание и превращение в короткую палочку, приведен в работе Stapp и Bortels. Эти морфологические изменения имеют много общего с теми картинами, которые изучались нами и описаны в данной работе.

Описание этой целлюлозной бактерии закончим ее кратким видовым диагнозом.

Cytophaga Hutchinsonii Winogr. Вегетативные клетки — тонкие, с заостренными концами, слегка S-образно изогнутые. Их величина — 0.3—0.4 $\mu \times$ 4.5—6 μ. Грам отрицательна. Молодые клетки подвижны жгутиков нет. Группируясь, клетки образуют псевдоплазмодий. Вегетативные формы постепенно превращаются в круглые микроцисты 1.5 μ в диаметре, погибающие при 68° в течение 10 мин. На бумаге образуют желтые, влажные, блестящие пятна. Рост только на средах с клетчаткой. Целлюлоза полностью разлагается с образованием слизи, которая, подсыхая, дает прозрачную пленку. Нитраты не восстанавливает.

Cytophaga ellipsospora nov. sp. Другой вид *Cytophaga*, изолированный из почвы также в чистой культуре, довольно резко отличался от *Cytophaga Hutchinsonii*. Приводим краткую характеристику этого вида.

Морфология и цикл развития

Молодые формы. Слегка изогнутые тонкие палочки с заостренными концами, величиной 0.45 $\mu \times$ 7.5 μ в среднем. Клетки чаще всего имеют незначительную кривизну в виде буквы S, реже изогнуты дугообразно (табл. I, *10*). Деление осуществляется с помощью постепенной перетяжки молодой формы в средней ее части. Молодые формы обладают активной подвижностью, хотя и не имеют жгутиков.

Переходные формы. Дальнейшая эволюция клеток заключается в том, что молодые формы укорачиваются, одновременно утолщаясь. Их концы становятся закругленными, подвижность постепенно утрачивается. Эти переходные формы первого порядка обычно дугообразно изогнуты (табл. I, *11*). При утолщении клеток в средней части и их укорочении возникают веретенообразные клетки — переходные формы второго порядка (табл, I, *12*). Дальнейшее сокращение клеток приводит к образованию микроцист.

Микроцисты. Их форма овальная или несколько удлиненная. Размеры 0.9—1.2 $\mu \times$ 1.65—1.8 μ (табл. I, *13*). Содержимое микроцист матовое, гомогенное, они даже лишены того слабого блеска, который имеют микроцисты *Cyt. Hutchinsonii*. От последних они отличаются также тем, что всегда лежат в виде скоплений, тесно прилегая друг к другу. Изолированно лежащие отдельные микроцисты встречаются очень редко. Исходя из внешнего вида микроцист, данной форме целлюлозной бактерии присваивается название *Cytophaga ellipsospora* nov. sp.

Образование псевдоплазмодия. Клетки, находящиеся в той стадии своего развития, которая была обозначена нами, как переходная форма первого порядка, могут группироваться в отдельные скопления шаровидной формы, величина которых колеблется от 15 до 40 μ. Составляющие такой «клубок» элементы настолько тесно соединены друг с другом, что довольно трудно различать отдельные образующие его клетки. Способность давать псевдоплазмодий у данного вида выражена так же отчетливо, как и у *Cyt. Hutchinsonii*.

Рост на клетчатке. На пластинках кремнекислого геля с бумагой возникают оранжевые, довольно резко отграниченные пятна, быстро становящиеся слизистыми и блестящими. Распространяясь эксцентрично, *Cyt. ellipsospora* захватывает все новые и новые участки бумаги. Так же, как и *Cyt. Hutchinsonii*, эта форма вызывает полное разложение клетчатки. В центральных частях более старых пятен волокна целлюлозы обычно уже не обнаруживаются. Они полностью лизируются, одновременно происходит накопление бактериальных клеток и слизи.

На целлюлозном агаре изолированные колонии не возникают. Рост диффузный, — сначала вдоль отдельных волокон, затем возникают оранжевые пятна или полосы (в зависимости от способа посева). Более старые пятна состоят из оранжевой каемки — зоны активного роста *Cytophaga* и центральной части, становящейся более темной, так как волокна клетчатки, придающие среде белую окраску, в этих местах полностью уничтожены. Внешний вид таких культур очень характерен (фиг. 10).

На полосках фильтровальной бумаги в пробирках развитие происходит на уровне жидкости или несколько выше с образованием

оранжевой полоски, а также отдельных пятен. Окрашенный налет постепенно распространяется по полоске бумаги вверх, и на месте участков, ранее окрашенных в оранжевый цвет, остается прозрачная тонкая пленка. Разрыва бумаги на уровне среды обычно не происходит. В колбах с фильтрами так же, как и в предыдущем случае, сначала возникает оранжевая полоска, окаймляющая фильтр на уровне жидкости. Дальнейшее развитие может сопровождаться появлением больших пятен на участках фильтра, выходящих из среды (табл. II, *4*). Для старых культур типично ослизнение всего основания фильтра и его оседание.

Рост на других средах. Совершенно нет развития на обычных средах. Рост отсутствует также на агаровой среде Хетчинсона с добавлением глюкозы, левулезы, мальтозы, галактозы, сахарозы, ксилозы, арабинозы, молочнокислого кальция и уксуснокислого калия. Ни одно из этих соединений не может заменить клетчатку, как источник углерода. Здесь имеется полная аналогия с физиологическими особенностями *Cyt. Hutchinsonii*.

Влияние температуры на рост. Образование оранжевых пятен на бумаге происходило при 15° на 7-й, 22° на 5-й, 28° на 3-й и при 37° на 8-й день. Развитие при 37° наблюдалось только в некоторых посевах.

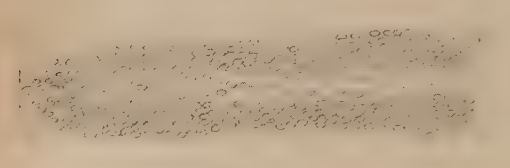
Устойчивость к высоким температурам. Нагревание водной эмульсии клеток до 58° в течение 10 мин. приводит к полной гибели микроцист. При 54° и 56° погибает значительное количество клеток, так как после нагревания до этих температур часть посевов остается стерильными. Именно с этими температурами мы оперировали при выделении чистой культуры.

Влияние высушивания. Микроцисты устойчивы к высыханию. Находясь в течение 21, 45 и 90 дней в высушенном состоянии, они сохранили способность к прорастанию.

Действие на клетчатку. Вначале в волокна целлюлозы проникают только отдельные клетки, которые, размножаясь, образуют тяжи. В дальнейшем волокно окружается со всех сторон молодыми формами *Cytophaga*, располагающимися продольно. Проникая все глубже, клетки постепенно разрушают волокна, причем более старые, расположенные снаружи клетки превращаются в переходные формы, а затем в микроцисты. Волокно клетчатки исчезает полностью. Вместо него остается слоистый слизистый тяж, в котором лежит большое количество микроцист и единичные вегетативные клетки (фиг. 11). Накопление слизи и увеличение числа клеток нарастает по мере уменьшения поперечника волокна целлюлозы. Состоящие из микроцист скопления, удлиненная форма которых соответствует ранее бывшим волокнам, могут быть раздавлены между покровным и предметным стеклом. Таким путем можно нарушить связь между

микроцистами, которые в отличие от *Cyt. Hutchinsonii* редко лежат изолированно.

Итак, новый вид *Cyt. ellipsospora* так же, как и микроорганизм, описанный Hutchinson и Clayton, обладает способностью полностью разлагать клетчатку в чистой культуре. Обе формы могут быть отнесены к облигатным целлюлозным бактериям, развивающимся только на клетчатке. Объединяет их также почти идентичное строение и цикл развития, одинаковые температурные точки роста, устойчивость к высушиванию и ряд других моментов. Но в то же время по ряду признаков эти виды отличаются довольно резко друг от друга. Перечислим их кратко.



Фиг. 11

Cytophaga Hutchinsonii Winogr.	*Cytophaga ellipsospora* nov. sp.
Пятна на бумаге желтого цвета	Пятна яркооранжевого цвета
Вегетативные клетки 0.3—0.4 μ × 4.5—6 μ.	Клетки несколько крупнее 0.45 μ × 7.5 μ.
Микроцисты круглые, 1.5 μ в диаметре	Микроцисты овальные или удлиненные 0.9—1.2 μ × 1.65—1.8 μ
Микроцисты погибают при 68° в течение 10 мин.	Микроцисты убиваются при 58° в течение 10 мин.
В присутствии углеводов клетчатка не разлагается	Чувствительность к углеводам более высокая

Распространение *Cytophaga ellipsospora.* По сравнению с *Cytophaga Hutchinsonii* этот вид встречается несколько реже, но при посеве некоторых образцов почв вокруг почвенных частиц появлялись почти исключительно оранжевые пятна. Возникновение этих окрашенных зон было связано с развитием *Cyt. ellipsospora.* Другие целлюлозные бактерии на этих чашках почти полностью отсутствовали. Таким образом данная форма принадлежит также к распространенным видам в почве. Ниже приводится ее краткая характеристика.

Cytophaga ellipsospora nov. sp. Молодые формы тонкие, с заостренными концами, слегка S-образно изогнутые. Размеры 0.4—5 μ × 7.5 μ. Клетки подвижны, жгутиков нет. Грам отрицательна. Переходные формы в культурах образуют псевдоплазмодий. Микроцисты овальные, 0,9—1.2 μ × 1.65—1.8 μ, погибающие при 58° в течение 10 мин. На бумаге образует оранжевые, блестящие, слизистые пятна. Развитие только на средах с целлюлозой. Волокна клетчатки полностью разрушаются с образованием слизи. Нитраты не восстанавливает.

Разложение клетчатки культурами *Cytophaga* при ограниченном доступе воздуха

Выше неоднократно указывалось, что развитие *Cytophaga* в жидких средах на клетчатке происходит на уровне верхних слоев жидкости, т. е. при свободном доступе воздуха. Но способна ли данная группа целлюлозных бактерий развиваться только в строго аэробных условиях? Для выяснения этого вопроса мы воспользовались методикой, обычно применяющейся для выделения анаэробных целлюлозных бактерий. Были произведены посевы культур *Cytophaga* в большие пробирки со средой Хетчинсона, на дне которых находились кусочки бумаги (подробнее см. раздел о методике).

Через 5 дней после посева *Cyt. Hutchinsonii* на верхнем крае кусочков бумаги появилась узкая каемка желтого цвета и единичные пятна величиной в 2—3 мм на самих полосках бумаги. Волокна клетчатки, взятые из окрашенных участков, содержали типичные клетки *Cytophaga*; сами волокна претерпевали при этом изменения, указывающие на разложение клетчатки. Отметим, что в волокнах целлюлозы и между ними имелись только вегетативные клетки, — микроцисты в этих условиях не образуются. Здесь существует известная аналогия со способностью аэробных спороносных бактерий давать споры только при свободном доступе кислорода (Bayne-Jones a. Petrilli, Pettger a. Gillespie и др.).

В дальнейшем желтая полоска, идущая вдоль края бумаги, превратилась в тонкую сероватую пленку, легко отделяющуюся при встряхивании и опадающую на дно пробирки. Через месяц бумага на одной трети поверхности кусочков стала тонкой, прозрачной и приобрела легкий желтоватый оттенок.

Итак, *Cytophaga Hutchinsonii* способна разрушать клетчатку и при затрудненном доступе кислорода, но этот процесс протекает значительно медленнее, чем при обычных условиях культивирования организма. Вопрос о возможном энзиматическом разложении целлюлозы отпадает, так как при этом возникают окрашенные пятна, в которых волокна клетчатки набиты клетками.

В аналогичных опытах с чистой культурой другого вида, именно *Cyt. ellipsospora*, на клетчатке, находящейся на дне пробирки, также появлялись оранжевые полоски и пятна. Волокна целлюлозы содержали клетки *Cytophaga*, но образования микроцист не было совершенно.

В строго анаэробных условиях (см. методику) *Cytophaga* не развивается, и бумага остается не измененной в течение 30 дней.

Таким образом представление о *Cytophaga*, как о строгом аэробе, не совсем точно. Эта группа целлюлозных бактерий занимает промежуточное положение между спороносными формами, вызывающими

брожение клетчатки в анаэробных условиях, и облигатными аэробами, к которым, как мы увидим ниже, относится *Cellvibrio*.

Способность *Cytophaga* разрушать целлюлозу без доступа свободного кислорода расширяет сферу деятельности этих организмов в природе, и возможно, что она не ограничивается поверхностными слоями почвы или воды. Напомним, что при изучении микрофлоры грунтов Каспийского моря Малиянц получила смешанные культуры бактерий, разлагающих целлюлозу, среди которых были пигментные формы, идентифицированные с *Cytophaga*. О нахождении этих организмов в водоемах сообщают также Исаченко и Вакенгут.

Влияние азотистых соединений и углеводов на разложение целлюлозы культурами *Cytophaga*

Методика относящихся сюда опытов заключалась в том, что к среде Хетчинсона без нитратов добавлялись различные количества азотнокислого натрия, сернокислого аммония и пептона. Концентрация этих веществ в среде была 0.01%, 0.025%, 0.25% и 0.5%. При выяснении влияния пептона дополнительно были произведены посевы также на среду с 1% и 1.5% пептона. Эмульсия клеток *Cytophaga* вносилась в пробирки, содержащие эти среды, и полоски фильтровальной бумаги. Пробирки выдерживались в термостате при 28° и начало роста регистрировалось по появлению цветных пятен на бумаге.

Резюмируем результаты этих опытов.

1. На средах, содержащих азотнокислый натрий, сернокислый аммоний или пептон в концентрациях от 0.01% до 0.5%, *Cytophaga* дает одинаково хороший рост.

2. Различная концентрация этих веществ (в пределах 0.01—0.5%) не отражается на сроках начала видимого развития *Cytophaga*. Цветные пятна во всех случаях возникали на третий день.

3. Высокие концентрации пептона (1—1.5%) в среде действуют токсически. Рост *Cytophaga* в этих условиях невозможен и окрашенные зоны на бумаге не появляются.

4. При развитии на средах с нитратами восстановления последних не происходит ни в молодых, ни в старых культурах.

Интересно, что развитие *Cytophaga* постоянно наблюдалось также в контрольных посевах, т. е. в пробирках, содержащих минеральный раствор без добавления азотистых соединений. Начало роста в этих пробирках запаздывало на 3—4 дня и размножение *Cytophaga* было слабее, чем на среде Хетчинсона с нитратами, сернокислым аммонием или пептоном.

Возможность развития целлюлозных бактерий на клетчатке, погруженной в безазотистую среду, была уже отмечена Gray и Chalmers в их работе о *Microspora agarliquefaciens*. Повидимому, раз-

множение *Cytophaga* в этих условиях происходит за счет незначительных количеств органического азота, содержащихся даже в высококачественной фильтровальной бумаге. Таким образом потребность в азоте у *Cytophaga* весьма ограничена, и эти целлюлозные бактерии могут быть отнесены к олигонитрофильным организмам.

В следующей серии опытов изучалось влияние углеводов на разложение клетчатки культурами *Cytophaga*. С этой целью к минеральному раствору Хетчинсона добавлялись различные углеводы. Концентрация последних в среде была 0.001, 0.01, 0,05, 0.1, 0.3 и 0.5%. Посевы чистых культур *Cyt. Hutchinsonii* и *Cyt. ellipsospora* производились в пробирки, содержащие эти жидкие субстраты и полоски фильтровальной бумаги. Контроль — обычная среда Хетчинсона с клетчаткой.

В табл. 1 дана сводка этих исследований, которая дает представление об отношении *Cytophaga* к углеводам.

Проанализировав эти данные и дополнив их сроками начала видимого роста *Cytophaga*, можно сделать следующие обобщения:

1. Все изучавшиеся углеводы, за исключением сахарозы, в концентрациях от 0.001 до 0.05% задерживают рост *Cytophaga*. В среде, содержащей 0.3% одного из углеводов, *Cytophaga* вообще не развивается.

2. Различные углеводы влияют неодинаково. По степени своего «антисептического» действия они могут быть расположены в следующем порядке. Наиболее резко выраженный эффект дает левулоза, затем ксилоза, арабиноза, глюкоза, галактоза и мальтоза.

3. Депримирующее влияние углеводов на рост прямо пропорционально их концентрации в среде: чем последняя выше, тем позднее наступает развитие *Cytophaga*.

4. Новый вид — *Cyt. ellipsospora*, более чувствителен к сахарам, чем *Cyt. Hutchinsonii*. Этот организм не развивается при концентрациях, переносимых еще *Cyt. Hutchinsonii*.

Отметим еще, что некоторый интерес представляет токсическое действие ксилозы и арабинозы на целлюлозные бактерии. Именно эти углеводы могут иметь значение при разложении растительных остатков в природных условиях и, повидимому, между микроорганизмами, утилизирующими пентозы, и бактериями, разлагающими клетчатку, должна существовать определенная связь, так как последние резко реагируют на присутствие пентоз.

Таким образом органические вещества (сахара, пептон) действуют угнетающе на *Cytophaga*. Выше мы уже указывали, что клетки, помещенные на среды с глюкозой, в сильной степени деформируются и структура их нарушается. О том, что глюкоза оказывает неблагоприятное действие на развитие *Cytophaga*, указывают в своей работе Stapp и Bortels. Эти исследователи установили также, что рас-

творимый крахмал, декстрин и сахароза в концентрации до 1% включительно не задерживают роста *Cytophaga*, тогда как в присутствии продуктов разложения клетчатки, именно целлотетраозы, целлотриозы и целлобиозы, разрушение целлюлозы происходило медленнее или не наступало совсем.

Такое отношение облигатных целлюлозных бактерий к некоторым органическим веществам позволяет говорить об известном сходстве между ними и возбудителями нитрификации. Однако при тех принципиальных различиях, которые существуют между этими двумя группами организмов, такая аналогия является только внешней.

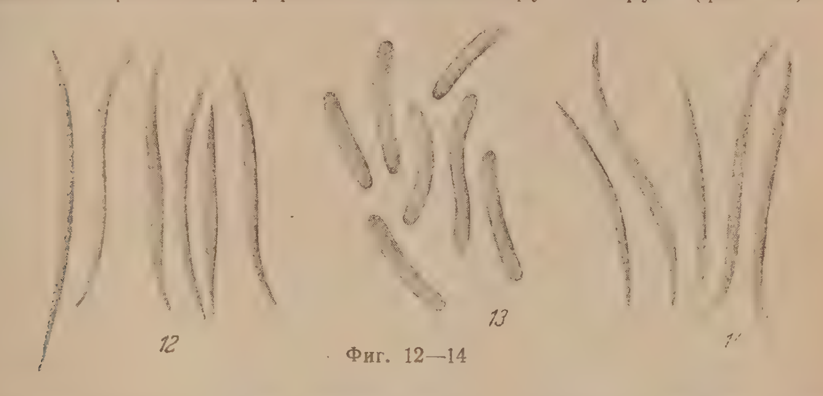
Амикроцистные формы *Cytophaga*

При посевах почвы на фильтровальной бумаге иногда появляются окрашенные зоны, и взятые из них волокна целлюлозы содержат клетки *Cytophaga*. Но в отличие от описанных выше видов молодые клетки в этих пятнах не превращаются в микроцисты, сохраняя и в старых культурах свою форму тонких, слегка изогнутых палочек. Такие амикроцистные формы довольно широко распространены в почве, и относящиеся сюда виды были описаны Виноградским, Stapp и Bortels. Выделение этих *Cytophaga* в чистой культуре — задача, пока еще не разрешенная, и по мнению Stapp и Bortels эти микроорганизмы не способны развиваться самостоятельно без бактерий-спутников. Потребность в облигатном симбионте, определяющем способность к размножению другого вида, — явление в микробиологии не частое и представляющее общебиологический интерес. Однако применительно к целлюлозным бактериям интерпретация этих наблюдений наталкивается на некоторые затруднения. Возможность получить чистую культуру *Cytophaga*, но только образующую микроцисты, была установлена самими Stapp и Bortels. Трудно предположить, что генетически столь близкие формы с одинаковыми функциональными особенностями так резко отличались бы друг от друга по своей способности существовать самостоятельно без симбионтов. Возможно, что бактерии-спутники оказывают только благоприятное влияние на развитие *Cytophaga*. Вопрос же о самостоятельном существовании этих организмов в чистой культуре требует для своего разрешения дальнейшего усовершенствования методики их выделения.

Вернемся к амикроцистным формам *Cytophaga*. Один из относящихся сюда видов развивался на целлюлозе с образованием желтых блестящих пятен.

Изучая эту очищенную культуру, мы должны были притти к выводу, что эта форма, по характеру своего роста на бумаге, морфологии клеток, способности разрушать волокна клетчатки и другим признакам, не отличается от *Cytophaga Hutchinsonii*. На фиг. 12 изо-

бражены слегка изогнутые, с заостренными концами молодые клетки этого вида. В более старых культурах одновременно с этими клетками встречаются укороченные, с закругленными концами клетки, полностью соответствующие тем переходным формам первого порядка, которые постоянно встречаются в культурах *Cyt. Hutchinsonii* в начале процесса образования микроцист. По своему виду эти молодые и переходные формы отличаются друг от друга (фиг. 13).



Фиг. 12—14

Таким образом у этой разновидности *Cytophaga* клетки подвергаются изменениям, характерным для начала перехода их в стадию покоя. Цикл развития на этом как бы прерывается и микроцисты не образуются. Эту форму правильнее рассматривать не как отдельный вид, а как амикроцистную расу *Cyt. Hutchinsonii*. Повидимому, она идентична с *Cyt. lutea* Виноградского и *Cyt. silvestris* Stapp и Bortels. К амикроцистным формам должна быть отнесена также *Cytophaga*, развитие которой на клетчатке сопровождалось появлением розовых пятен. Ее вегетативные клетки (фиг. 14), типичные для данной группы организмов, также не превращались в микроцисты.

Систематическое положение и изменчивость *Cytophaga*

Существуют микроорганизмы, морфолого-систематическое изучение которых продвинулось значительно дальше, чем изучение их роли в круговороте веществ. Как один из наиболее ярких примеров, можно привести отряд *Myxobacteriales*, этой своеобразной группы организмов, столь отличающихся от обычных бактерий по своему циклу развития, способности давать плодовые тела и ряду других признаков. Благодаря работам Thaxter, Kofler, Quel, Vahle, Baur, Jahn, Krzemieniewska и др. наши сведения о миксобактериях обогатились значительным количеством фактов об их морфологии, систематике и распространении в природе. Между прочим, было установлено, что представление о них, как о копрофильных организмах, неверно, и в частности Jahn считает их типич-

ными почвенными бактериями. Распространение миксобактерий в различных почвах столь широко (Krzemieniewska), что невольно возникает вопрос о роли этих бактерий в почве. Специальных исследований по этому вопросу не существует и при анализе микрофлоры почвы миксобактерии обычно не регистрируются, несмотря на то, что почти из каждого образца почвы можно выделить 7—10 видов. Возможно, что некоторые неспоровые палочки, изолируемые из почвы и определяемые, как обычные бактерии, в действительности принадлежат к миксобактериям. По нашим наблюдениям, образование плодовых тел в культурах происходит иногда только на 10—12-й день, и, повидимому, такие формы при обычных исследованиях относятся не к *Myxobacteriales*.

Среди бактерий, разлагающих целлюлозу в аэробных условиях, имеются формы, принадлежность которых к миксобактериям очевидна. К таким видам должен быть причислен описанный *Polyangium cellulosum*, история развития которого полностью это подтверждает. Но к миксобактериям мы отнесли и различные виды *Cytophaga*. Это было сделано на основании следующих соображений.

1. История развития *Cytophaga* — превращение слегка изогнутой с заостренными концами палочки в споровидное образование (микроцисту) типично для миксококков. На это обстоятельство было уже обращено внимание Krzemieniewska. Именно этот признак был положен в основу при выделении миксококков в отдельный род, насчитывающий несколько, имеющих много общего с *Cytophaga*, видов. Далее, как было уже указано, в культурах *Cytophaga* возникают скопления клеток — «клубки», которые можно рассматривать, как псевдоплазмодий, образующийся у миксобактерий перед образованием плодовых тел. Если бы наблюдалось последующее превращение этих скоплений в плодовые тела, содержащие споры, resp. микроцисты, то тогда принадлежность *Cytophaga* к миксобактериям не требовала бы обсуждения. Но этого не происходит. Только единичные клетки в этих «клубках» превращаются в микроцисты, образование же вполне сформировавшихся плодовых тел не наступает. Здесь можно высказать два предположения — способность давать вполне зрелые плодовые тела у *Cytophaga* утрачена, или в условиях лабораторного культивирования формирование плодовых тел не заканчивается в отличие от обычных условий, например почвы. В пользу каждого из этих объяснений могут быть приведены доводы за и против, и окончательное решение станет возможным лишь при дальнейшем изучении изменчивости миксобактерий, как экспериментальной, так и в природе. Однако уже в настоящее время известно, что существуют миксобактерии, у которых интенсивное размножение и появление плодовых тел наблюдается при определенных условиях, например только в смешанных культурах с другими бактериями (Pinoy, Vahle).

2. Далее на связь с миксобактериями указывает и то, что клетки *Cytophaga* активно подвижны при полном отсутствии жгутиков. Такой осцилляторный характер движения, постоянно наблюдающийся у миксобактерий, не имеет еще общепризнанного объяснения. Наиболее распространенным является мнение Jahn'a, считающего, что на концах клетки миксобактерий имеются отверстия, через которые периодически в окружающую среду выделяется слизь. Набухание последней в жидкости и обусловливает поступательное движение бактерий.

3. Существенно, что структурные особенности клеток *Cytophaga* идентичны со строением клеток миксобактерий. Сравнительно-цитологический метод оказывается весьма ценным при выяснении систематического положения этой группы организмов. Своеобразный ядерный аппарат у *Cytophaga*, об изменениях которого в связи с циклом развития будет сделано отдельное сообщение, составляет одну из характерных особенностей *Cytophaga*. Аналогичное распределение хроматина наблюдается только у миксобактерий, строение протопласта которых иное, чем у представителей других групп бактерий.

4. Разложение клетчатки *Cytophaga* сопровождается образованием значительных количеств слизи, которая накапливается в виде железообразной массы в культурах и обнаруживается в виде тяжей или скоплений при микроскопии. Продукция слизи, как показывает само название *Myxobacteriales*, является одним из типичных признаков этих организмов. Что касается появления окрашенных зон на бумаге (желтых, розовых, оранжевых и т. д.), то эти пигменты, относящиеся, очевидно, к каротиноидам, настолько характерны для миксобактерий, что их различными оттенками пользуются для систематических целей (Jahn).

Таким образом перечисленные выше биологические особенности *Cytophaga* позволяют отнести их к миксобактериям, именно к роду миксококков. Однако ввиду укоренившегося за этими организмами родового названия *Cytophaga* при дальнейшем изложении будет применяться это название.

Почвы, на поверхности которых находятся значительные количества растительных остатков, особенно богаты различными видами миксобактерий (Jahn). Большинство из них принимает участие в ценозе организмов, разлагающих эти остатки, и вполне вероятно, что именно среди этих форм возникли в результате адаптации специализированные бактерии, способные утилизировать только углерод клетчатки. Такие виды были недоступны для авторов, ранее изучавших миксобактерии, и только с введением в микробиологическую практику элективных сред их выделение стало возможным. Отметим, что на клетчатке нередко одновременно с формами, разла-

гающими целлюлозу, развивались различные виды миксобактерий, образующие типичные плодовые тела и не обладающие способностью разрушать целлюлозу. Их одновременное развитие, возможно, связано с теми метабиотическими отношениями, которые существуют между отдельными представителями этой группы микроорганизмов в природе.

Итак, в аэробном разложении клетчатки принимают участие некоторые миксобактерии, среди которых *Cytophaga Hutchinsonii*, повидимому, наиболее часто встречается в почве. Сюда же должен быть отнесен и целый ряд других описанных в литературе форм, не образующих микроцист. Эти виды можно рассматривать как несовершенные формы, утратившие способность давать стадию покоя — микроцисты. Подобно аспорогенным расам дрожжей и бактерий эти формы могут сохранить весь комплекс признаков, характерных для данного вида, и только их жизненный цикл является неполным, как бы прерванным. Объединение таких видов в один род с точки зрения систематики не свободно от возражений, но наблюдения по изменчивости других микроорганизмов в условиях эксперимента и в природе делают такое объединение возможным.

Если расположить уже известные формы миксобактерий, разлагающие клетчатку, исходя из наблюдаемого у них в лабораторных условиях цикла развития, то могут быть образованы три группы:

1. *Polyangium cellulosum* nov. sp.	Образование настоящих плодовых тел
2. *Cytophaga Hutchinsonii* Winogr. *Cyt. ellipsospora* nov. sp.	Имеются попытки к образованию плодовых тел. Вегетативные клетки превращаются в микроцисты
3. *Cyt. aurautiaca* Winogr. *Cyt. rubra* Winogr. *Cyt. lutea* Winogr. *Cyt. tenuissima* Winogr. *Cyt. silvestris* St. u. Bort. *Cyt. annularis* St. u. Bort. *Cyt. crocca* St. u. Bort. *Cyt. flavicula* St. u. Bort.	Микроцисты не образуются. У некоторых видов возникает псевдоплазмодий — начальная стадия возникновения плодовых тел

Приведенная схема базируется на постепенном упрощении цикла развития, на потере признаков, составляющих отличительную особенность данной группы организмов. Для бактерий, полифилетичность происхождения которых очевидна, сравнительно-морфологический метод является существенным при выяснении их филогении. Поиски в природе промежуточных форм, устанавливающих генетическую связь бактерий с более сложно организованными формами

(актиномицеты, сине-зеленые водоросли, миксобактерии и др.), могут дать в этом отношении ценный материал.

Провизорное деление *Cytophaga* на две группы могло бы найти себе подтверждение в экспериментальном получении амикроцистной расы из вида, образующего микроцисты. Однако обычно применяемые при изучении изменчивости методы в данном случае мало пригодны. *Cytophaga* не дает отдельных колоний на плотных средах, и рассев на чашки применить нельзя. Селекция новых форм, таким образом, затрудняется, и возникновение сальтанта может произойти лишь при наследственном изменении всей популяции в целом или при постепенном вытеснении исходной формы вновь возникшей расой.

Выше, когда речь шла о разложении клетчатки в условиях «кислородного голодания», было указано, что *Cytophaga*, развиваясь на дне пробирки, не дает микроцист. Из этих культур были произведены отсевы на обычную среду с наполовину погруженной в нее клетчаткой. Оказалось, что и в аэробных условиях вновь размножающиеся клетки не переходят в стадию покоя. Аналогичные результаты были получены и в опытах с глюкозой. Культивируя *Cyt. Hutchinsonii* на клетчатке, пропитанной минеральной средой, содержащей незначительные (еще переносимые этим организмом) концентрации глюкозы, мы обратили внимание на то, что в этих условиях микроцисты также не возникают. Хотя в обоих случаях эти изменения оказались нестойкими и при дальнейших пересевах вариантов в культурах начали появляться микроцисты, все же эти наблюдения говорят об относительной устойчивости такого признака, как образование микроцист. Вероятно, при рассеве таких культур (если бы это было возможным) удалось бы изолировать стойкие амикроцистные расы. При обычных же посевах клетки, утратившие способность давать микроцисты, постепенно вытесняются исходной формой.

Принимая, что функция образования микроцист может быть утрачена, следует ожидать, что некоторые виды существуют в природе в двух вариациях.

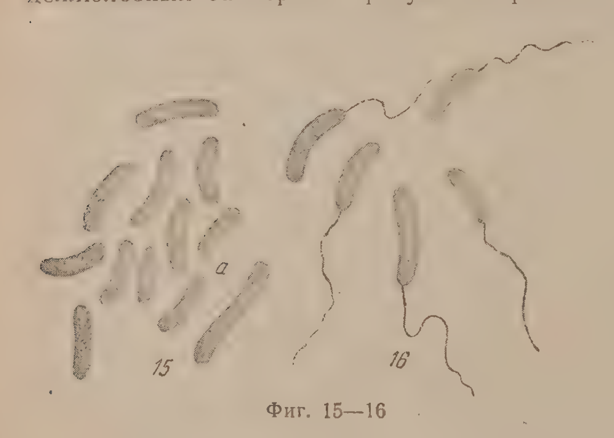
Если мы обратимся к описанию *Cytophaga silvestris*, приведенному в работе Stapp и Bortels, то оказывается, что этот вид, по собственному признанию авторов, отличается от *Cytophaga Hutchinsonii* (*Cyt. globulosa* St. u. Bort.) только отсутствием микроцист. Размеры и форма клеток, цвет пигмента и ряд физиологических признаков этих организмов полностью совпадает. Поэтому этот вид, так же, как и форму, изолированную нами и, повидимому, идентичную с предыдущей, правильнее рассматривать как амикроцистную расу *Cyt. Hutchinsonii*, обладающую такой же отчетливо выраженной способностью разлагать клетчатку. Другой вид, образующий микро-

цисты, именно изолированная нами *Cyt. ellipsospora*, также, повидимому, имеет амикроцистную расу, которая была названа Виноградским *Cyt. aurautiaca*.

Однако, судя по количеству описанных в литературе видов с неполным циклом развития, возможно, что некоторые *Cytophaga* не имеют параллельных форм и существуют только как амикроцистные виды. Все же при идентификации выделяемых *Cytophaga* возможность одновременного существования двух вариаций должна быть учтена, так как это облегчит систематику целлюлозных бактерий.

Вибрионы, разлагающие клетчатку

Совершенно обособленную, отличающуюся от *Cytophaga* группу целлюлозных бактерий образуют вибрионы. Ниже будет приведено описание одного вида *Cellvibrio*, выделенного при посеве обогащенной культуры на целлюлозный агар.

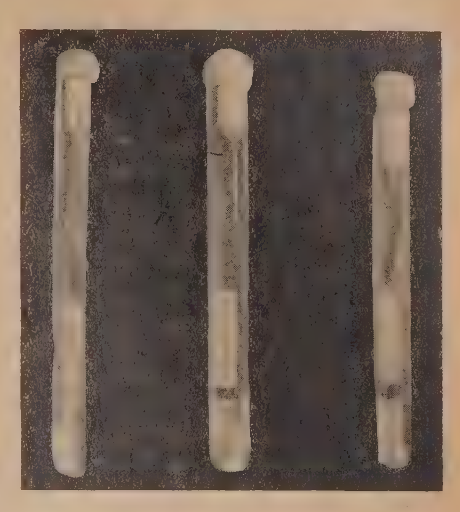


Фиг. 15—16

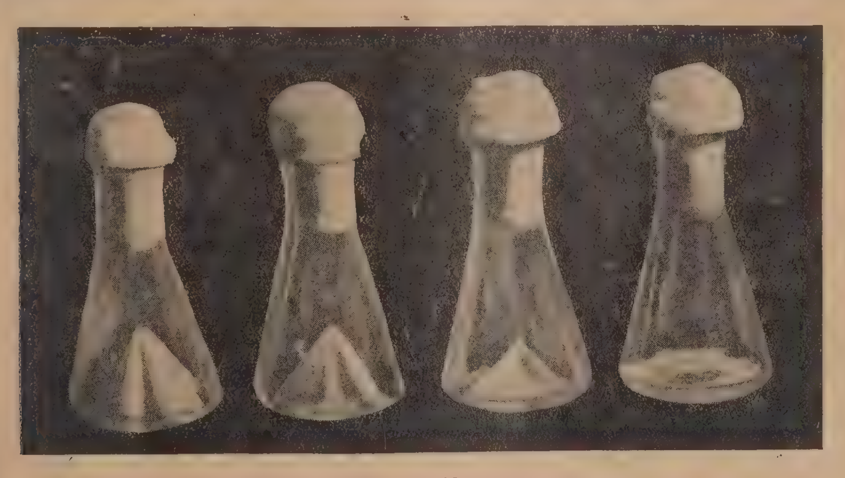
Cellvibrio vulgaris Stapp. u. Bort. (*Syn. Bacter.* «*Co*» Dubos) изолирован в чистой культуре из оранжерейной почвы.

Морфология. Слегка изогнутая, с закругленными концами палочка 0.4—0.5 $\mu \times$ 3.0—4.5 μ величины. По своей форме типичный вибрион (фиг. 15) размножается поперечным делением и после образования перегородки клетки могут оставаться соединенными друг с другом (фиг. 15, *a*). Микроорганизм подвижен, имеет униполярный жгутик, длина которого в 2—3 раза больше длины клетки (фиг. 16). *Cellvibrio* не образует артроспор, почек или других репродуктивных или покоящихся форм. Говоря о морфологии *Cellvibrio vulgaris*, необходимо остановиться на двух моментах. Во-первых, клетки этой бактерии в более старых культурах на клетчатке равномерно уменьшаются в своих размерах и иногда довольно значительно. Во-вторых, отмирание клеток и их аутолиз на плотных средах — явление настолько частое, что спустя несколько дней после посева начинают преобладать бледные, плохо окрашивающиеся «клетки тени». Вследствие этого культуры часто вырождаются и при дальнейших посевах не дают роста.

Рост на клетчатке. При посеве в пробирки с полосками фильтровальной бумаги и средой Хетчинсона через 24 часа при 28° появляется муть в среде. На вторые сутки фильтровальная бумага полностью разрушается на уровне жидкости и полоска разрывается на два отдельных отрезка с неровными, как бы изъеденными краями. На фиг. 17 приведен снимок с двух таких пробирок; слева для сравнения помещена пробирка со стерильной средой. Развитие вибриона на клетчатке происходит очень быстро и не сопровождается образованием пигмента — бумага остается белой. Нет также ослизнения клетчатки, которое так характерно для *Cytophaga*. Энергичное разложение целлюлозы происходит и в колбах со складчатыми фильтрами. Развиваясь на уровне жидкости, *Cellvibrio* быстро вызывает оседание фильтра, и через трое суток вся бумага превращается в рыхлую бесцветную



Фиг. 17



Фиг. 18

массу, состоящую из отдельных обрывков и волокон. Постепенное разрушение фильтра изображено на фиг. 18.

Вибрион — строгий аэроб, и при затрудненном доступе воздуха (см. методику) *Cellvibrio* совершенно не развивается на клетчатке.

На целлюлозном агаре вибрион образует мелкие бесцветные колонии круглой формы. Колонии прозрачные, с блестящей гладкой поверхностью и ровными краями. Размеры колоний не превышают одного миллиметра. При небольших увеличениях колония имеет мелкозернистую структуру, центр довольно резко очерченный и более темный, чем периферия, края мелкофестончатые.

Рост на других средах. Резко отличается от *Cytophaga* своей способностью развиваться на средах без клетчатки. Так, на крахмальном агаре *Cellvibrio* растет в виде мелких, слегка сероватых блестящих колоний с гладкой поверхностью. При посеве штрихом на четвертый день вокруг слившихся колоний образуется широкая зона, не синеющая от иода. Гидролиз крахмала значительный. Культуры на этой среде требуют частых пересевов, так как пересев из девятидневной культуры на среду с клетчаткой или крахмальный агар уже не давал роста. *Cellvibrio vulgaris* развивается на Хетчинсон-агаре с добавлением различных сахаров. Отчетливый рост был на средах с глюкозой, левулозой, мальтозой, сахарозой, галактозой, ксилозой, арабинозой и декстрином. Развитие вибриона на жидких синтетических средах с этими углеводами не сопровождалось кислотообразованием. По своему отношению к углеводам вибрионы могут быть отнесены к группе факультативных целлюлозных бактерий. Физиологические особенности *Cellvibrio vulgaris* изменчивы. Так, непосредственно после выделения чистой культуры вибриона последний не размножался на мясопептонном агаре. Однако месяцем позже он приобрел способность расти на этом субстрате в виде мелких бесцветных колоний круглой формы с гладкими краями. Отметим, что энергия разложения целлюлозы на средах с клетчаткой при этом не изменилась. Для посевов пригоден только агар с достаточным количеством конденсационной воды. На подсохшей, даже незначительно, среде развития нет. Рост на бульоне слабый, без образования пленки.

Cellvibrio vulgaris не растет на мясопептонной желатине, сусло-агаре, пивном сусле, картофеле, моркови и молоке.

На способность вибриона развиваться на агаровых средах влияет содержание агара в среде. Если последнее выше, чем 1%, рост значительно хуже, чем на средах с 1% агара или с еще более низкой концентрацией. Этот факт мы объясняем тем, что среды с меньшим содержанием агар-агара имеют более влажную поверхность, столь необходимую для развития *Cellvibrio*. Разжижения агара вибрион не вызывает.

Отношение к температуре. Развитие на среде Хетчинсона с фильтровальной бумагой происходит при 15°, 22° и 28° почти с одинаковой быстротой. Во всех случаях через 48 час. полоски бумаги на уровне среды были полностью разрушены. При темпера-

туре 37° *Cellvibrio* совершенно не развивается. Этот вид вибрионов особенно чувствителен к высоким температурам, и нагревание водной взвеси клеток до 48° в течение 10 мин. убивает полностью все клетки.

Влияние высушивания. Вибрионы быстро погибают при высыхании культуры. Так, высушенные при комнатной температуре в течение 24 час. полоски фильтровальной бумаги (волокна которой содержали много клеток) при посеве в свежую среду с клетчаткой никогда не давали роста. Таким образом *Cellvibrio vulgaris* нестоек к температурным воздействиям и высыханию.

Разложение клетчатки в средах с различными источниками азота. К среде Хетчинсона (без нитратов) прибавлялось различное количество нитратов, сернокислого аммония или пептона. Испытаны были следующие концентрации этих соединений: 0.01, 0.025, 0.1, 0.25 и 0.5%.

Оказалось, что на средах с нитратами разложение клетчатки происходит наиболее энергично. Независимо от концентрации нитратов полоски фильтровальной бумаги были полностью разрушены на второй день. В присутствии сернокислого аммония и пептона развитие вибриона происходило медленнее, и целлюлоза почти во всех пробирках подверглась разрушению на третий день. Концентрация этих веществ не оказывала заметного влияния на быстроту разрушения бумаги.

Для развития *Cellvibrio vulgaris* на клетчатке необходимы незначительные количества азота. Разложение целлюлозы происходит — правда, со значительным опозданием по сравнению с контролем — и на фильтровальной бумаге, помещенной в безазотистую среду. Очевидно, что следы органического азота, которые содержит обыкновенная фильтровальная бумага, дают возможность вибриону разлагать клетчатку и без добавления специальных источников азотистого питания.

В среде Хетчинсона, в состав которой, как известно, входит азотнокислый натрий, развитие *Cellvibrio* постоянно сопровождается восстановлением нитратов до нитритов. Реакция на нитриты становится резко положительной уже на вторые сутки, оставаясь таковой и в старых культурах (до 1 месяца включительно). Напомним, что оба вида *Cytophaga* нитратов не восстанавливали.

Влияние углеводов на разложение клетчатки. Выше было указано, что *Cellvibrio vulgaris* развивается не только на целлюлозе, но и на средах с другими углеводами. При таком отношении к источникам углеродистого питания можно было предполагать, что сахара не будут обладать антисептическим действием. Если мы обратимся к табл. 1, где приведены результаты относящихся сюда наблюдений, мы увидим, что разложение клетчатки *Cellvibrio* про-

Влияние углеводов на разложение целлюлозы

Культура	Глюкоза в %						Левулоза в %						Сахароза в %				
	0.001	0.01	0.05	0.1	0.3	0.5	0.001	0.01	0.05	0.1	0.3	0.5	0.01	0.1	0.5	1.0	1.5
Cytophaga Hutchinsonii . .		+	+	±	−	−		±		+	−	−			+	+	+
Cytophaga ellipsospora . . .	+	+		±	−	−	÷	±	−	−	−	−	+	+	−	−	−
Cellvibrio vulgaris		+	+	+	+	+		+	+	+	−	−			+	+	+

Примечание. Обозначение ± указывает, что развитие происходило не во всех

исходит в присутствии 0.5% глюкозы или мальтозы. Однако при добавлении некоторых углеводов к среде целлюлоза не разрушается. Так, бумага остается неизмененной в пробирках с 0.3% левулозы, ксилозы, арабинозы и 0.5% галактозы. Итак, к содержанию некоторых сахаров в среде вибрион относится не индиферентно, но эта чувствительность к углеводам выражена значительно менее резко, чем у *Citophaga* (табл. 1). Отметим, что ксилоза, арабиноза и левулоза сильнее задерживают развитие вибрионов, чем другие углеводы. Следовательно, сахара по степени своего депримирующего действия на рост могут быть расположены в том же порядке, как это было сделано при рассмотрении результатов аналогичных опытов с *Cytophaga* (стр. 44).

Таким образом, несмотря на способность утилизировать сахара, *Cellvibrio vulgaris* не всегда разлагает целлюлозу в их присутствии.

Действие на клетчатку. Вибрионы сначала находятся на поверхности отдельных волокон клетчатки, концентрируясь преимущественно в трещинах и углублениях волокон. Дальнейшее развитие происходит быстро, и вскоре все волокно становится как бы набитым вибрионами. Действие этих целлюлозных бактерий на клетчатку более поверхностное и не сопровождается тем утончением и лизисом волокон, которое так характерно для *Cytophaga*.

Целлюлоза под влиянием вибрионов быстро распадается на отдельные волокна, содержащие большое количество клеток, и вся бумага превращается в рыхлую волокнистую массу. Такое разрушение клетчатки происходит без образования значительных количеств слизи, обычно наблюдаемой в культурах *Cytophaga*. Таким образом разложение целлюлозы вибрионами происходит значительно скорее, чем это вызывает *Cytophaga*, но их действие кратковременное и неглубокое. Полного исчезновения волокон целлюлозы вибрионы не вызывают.

Заканчиваем описание данного вида его кратким диагнозом. *Cellvibrio vulgaris* St. u. Bort. Слегка дугообразно изогнутая палочка

Таблица 1

чистыми культурами целлюлозных бактерий

Мальтоза в %						Галактоза в %						Ксилоза в %						Арабиноза в %					
0.001	0.01	0.05	0.1	0.3	0.5	0.001	0.01	0.05	0.1	0.3	0.5	0.001	0.01	0.05	0.1	0.3	0.5	0.001	0.01	0.05	0.1	0.3	0.5
	+	+	+	−	−		+	+	±	−	−		+		±	−	−		+		±	−	−
±	±		±	−	−	+	±		±	−	−	+	±	−	−	−	−	±	±		±	−	−
	+	+	+	+	+		+	+	+	+	−		+	+	+	−	−		+	+	+	−	−

серияx опытов.

с закругленными концами величиной 0.4—0.5 $\mu \times$ 3.0—4.5 μ. Грам отрицательна. Подвижна, имеет один полярный жгутик. На целлюлозном и крахмальном агаре образует мелкие прозрачные колонии круглой формы. Пигмента не образует. Строгий аэроб. Быстро разрушает целлюлозу, но эта функция не специфична, так как возможно развитие на средах с другими углеводами. Крахмал гидролизует. Нитраты восстанавливает.

Итак, по целому ряду признаков *Cellvibrio* резко отличаются от всей группы *Cytophaga*, являясь в то же время несомненными возбудителями аэробного разложения клетчатки. Систематическое положение этих менее специализированных, но широко распространенных в природе бактерий не вызывает сомнений. Это типичные вибрионы с униполярным жгутиком, которых на основании их способности разлагать целлюлозу Виноградский объединил в род *Cellvibrio*. Из отдельных представителей этого рода помимо *Cellvibrio vulgaris* мы изолировали культуры вибрионов, образующих на бумаге пятна, окрашенные в желый, розовый или зеленый цвет. Эти виды вибрионов отличались от вышеописанного *Cellvibrio vulgaris* главным образом своей пигментообразующей способностью и несколько меньшими размерами клеток. Что же касается их действия на клетчатку, то оно почти ничем не отличается от действия *Cellvibrio vulgaris*. Отдельные волокна целлюлозы также бывают сплошь набиты вибрионами, но ни исчезновения волокон, ни ослизнения бумаги не происходит. По сравнению с *Cytophaga* цветные пятна *Cellvibrio* на бумаге появляются скорее и затем быстро распространяются по всей поверхности фильтра. Характер самих пятен также иной. Они не имеют резких границ, а постепенно переходят в неповрежденные участки бумаги. Поверхность пятен более сухая, матовая и лишена характерной для *Cytophaga* влажности и блеска. Центральные части пятен не превращаются в тонкую, слизистую, совершенно прозрачную пленку, что полностью совпадает с отсутствием лизиса волокон. Указанные признаки могут быть использованы при

регистрации посевов почвы на кремнекислый гель с клетчаткой для группового анализа целлюлозных бактерий.

Географическое распространение *Cellvibrio*. Вибрионы, разлагающие клетчатку, были находимы в почве различных стран. В частности, *Cellvibrio vulgaris* был изолирован под именем *Bact.* «Co» Dubos в США, Stapp u. Bortels в Германии, нами в СССР. Ряд видов, образующих пигменты, был найден во Франции (Виноградский), в Польше (Śnieszko), в Германии (Stapp u. Bortels), в США (Dubos), а также нами в различных образцах почвы, взятой в Москве и в Заволжье. Очевидно, что вибрионы, разрушающие целлюлозу, распространены повсеместно. Однако некоторые формы, повидимому, встречаются чаще только в определенных районах. Так, нам не удалось выделить в Москве вибриона, разлагающего клетчатку с образованием зеленых пятен, тогда как он постоянно появлялся на чашках при посеве почв Заволжья.

О продуктах разложения клетчатки

Исследования в этом направлении были начаты с определения количества клетчатки, разлагаемой аэробными целлюлозными бактериями. Для этого определенное количество высушенной до постоянного веса целлюлозы помещалось в колбы со средой Хетчинсона (подробнее см. раздел о методике). В колбы вносилась чистая культура бактерий и посевы выдерживались в термостате при 28°. Спустя различные сроки содержимое колб фильтровалось через заранее высушенный и взвешенный фильтр. Остающаяся на фильтре неразложенная клетчатка промывалась горячим раствором 1% соды и дестиллированной водой. Затем фильтр высушивался и снова взвешивался.

Развитие целлюлозных бактерий происходило главным образом на участках бумаги, имеющих непосредственный контакт с воздухом. Вследствие этого в различных колбах было трудно создать совершенно одинаковые условия для размножения бактерий.

В табл. 2 дана сводка результатов опытов по разложению клетчатки тремя видами целлюлозных бактерий. Из приведенных в таблице данных можно сделать следующие выводы:

1. Разрушение целлюлозы в колбах происходит довольно медленно — в некоторых опытах *Cytophaga* в течение 10 дней разлагает только 7.4% клетчатки.

2. В культурах *Cellvibrio vulgaris* разложение целлюлозы происходит быстрее, чем в культурах *Cytophaga*. В течение 6—9 дней вибрионы разлагают от 16 до 22%.

Низкий процент разложения клетчатки объясняется тем, что поверхность бумаги, соприкасающейся с воздухом, незначительна. Поставленные опыты с аэрацией культур *Cellvibrio* дали иные резуль-

Таблица 2

Количество разлагаемой целлюлозы чистыми культурами аэробных целлюлозных бактерий

(Культуры в колбах)

Название организма	Продолжит. опыта (в днях)	Исходный вес клетчатки (в г)	Разрушено клетчатки	В %
Cytophaga Hutchinsonii	10	3.048	0.257	8
	10	4.682	0.573	12
Cytophaga ellipsospora	10	2.639	0.197	7
	10	2.898	0.291	10
Cellvibrio vulgaris	6	0.3406	0.0756	22
	6	0.3202	0.0622	19
	9	0.3810	0.0600	16
	9	0.3198	0.0516	16

таты. В этих опытах в цилиндр вместимостью в 250 см и содержащий 70 см³ среды Хетчинсона помещалась длинная складчатая полоса фильтровальной бумаги. Цилиндры закрывались пробками с двумя стеклянными трубками, через одну, доходящую почти до дна цилиндра, пропускался воздух, другая — короткая, служила для его выхода. Контрольные посевы были произведены в цилиндры, также содержащие фильтровальную бумагу и синтетическую среду, но закрытые ватной пробкой.

Этими опытами было установлено, что в аэрируемых культурах *Cellvibrio vulgaris* разложение клетчатки происходит более энергично. За четыре дня было разрушено в среднем 10% целлюлозы, тогда как в контрольных цилиндрах (без аэрации) потеря в весе клетчатки равнялась 3.8%. При продувании воздуха фильтровальная бумага разрушается не только на уровне жидкости, но разложению подвергается также клетчатка, погруженная в среду. Складчатая полоса бумаги быстро распадается на отдельные обрывки, в которых волокна содержат вибрионы. Что касается *Cytophaga*, то эти микроорганизмы при свободном доступе воздуха также быстрее разрушают целлюлозу. Нами были произведены посевы водной взвеси клеток *Cytophaga* на всю поверхность бумажного фильтра, находящегося на пластинках кремнекислого геля. При этой методике, как это следует из табл. 3, количество клетчатки, разложенной *Cytophaga ellipsospora* nov. sp. в течение десяти дней, равнялось 45—46%. Другой вид — *Cytophaga Hutchinsonii*, разрушил за этот срок несколько меньше — от 33% до 43%. Для сравнения укажем, что в колбах за такой же период культуры *Cytophaga* разрушали 7.4 — 10% клетчатки.

Таким образом аэрация определяет интенсивность разрушения целлюлозы, и быстрое разложение может происходить только в этих условиях.

Таблица 3

Разложение целлюлозы чистыми культурами *Cytophaga*
(Культуры на чашках)

№	Культура	Начальный вес	Разлож. целлюл.	% разл. цел.	Примечание
1	*Cytophaga ellipsospora* . . .	0.454	0.212	46	
2	» »	0.449	0.203	45	
3	» »	0.507	0.233	45	
4	*Cytophaga Hutchinsonii* . . .	0.515	0.224	43	
5	» » . . .	0.497	0.208	42	
6	» » . . .	0.463	0.153	33	Развитие не на всей поверхности фильтра

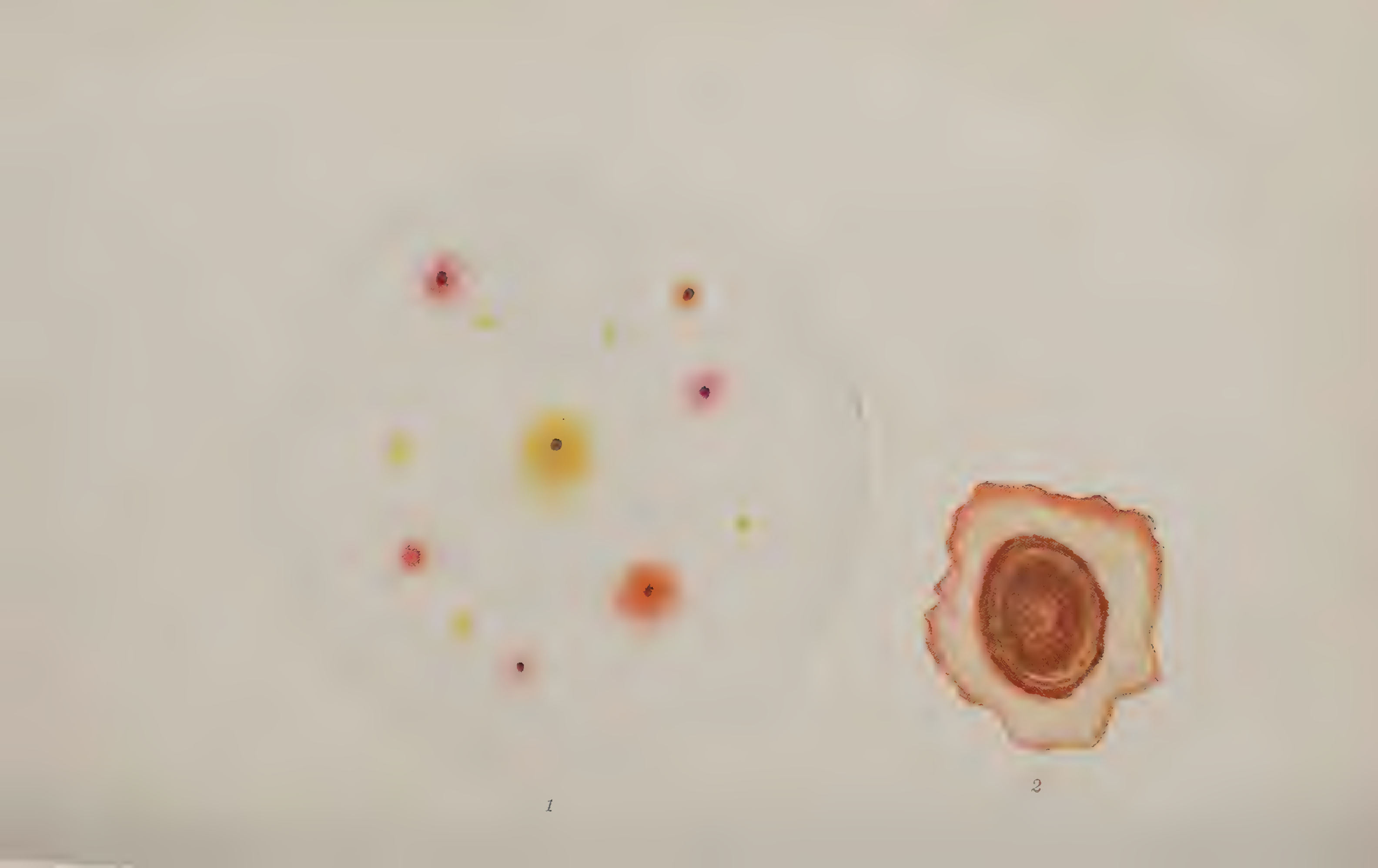
При разложении клетчатки *Cellvibrio* или *Cytophaga* реакция среды или совершенно не изменяется, или происходит незначительный сдвиг в сторону щелочности. Так, в культурах *Cellvibrio vulgaris* реакция иногда была pH 7.7. Развитие *Cytophaga* сопровождалось смещением pH до 7.64. Ввиду того, что обычная реакция стерильной среды Хетчинсона была 7.2 — 7.3, эти отклонения не являются значительными.

Для анализа продуктов разложения целлюлозы были использованы чистые культуры целлюлозных бактерий на среде Хетчинсона с клетчаткой. В одной серии опытов к среде прибавлялось 2% мела, в другой — добавления мела не производилось. Исследованы были культуры различного возраста: двух-, четырех- и десятисуточные.

В колбах, содержащих значительные количества разрушенной клетчатки, производилось определение сахаров по способу Феллинга. Оказалось, что при разложении целлюлозы вибрионами или *Cytophaga* редуцирующие вещества в культуре не образуются. Результаты этих исследований были постоянно отрицательными независимо от возраста культуры. В самых начальных стадиях видимого развития бактерий сахара также отсутствовали.

Далее содержимое колб с культурами бактерий на клетчатке перегонялось и в отгоне устанавливалось присутствие спирта. Качественные реакции на спирт с двухромокислым калием или раствором иода в иодистом калии всегда были отрицательными. Разрушение клетчатки культурами *Cytophaga ellipsospora* и *Cytophaga Hutchinsonii* происходит без образования летучих кислот. При многократных анализах реакция отгона культуры и среды Хетчинсона была одинаковой. Эти результаты в одинаковой степени относятся как к культурам на среде с мелом, так и без него.

Что касается *Cellvibrio vulgaris*, то в 6 анализах летучие кислоты также не были обнаружены, и только в одном случае в отгоне


1
2



3



4

Таблица II

из четырехсуточной культуры с мелом были открыты незначительные количества кислот — 0.036% при пересчете на уксусную кислоту.

Как мы имели возможность убедиться, разложение целлюлозы сопровождается образованием значительных количеств углекислого газа. Для учета выделяющегося CO_2 была применена следующая методика. В цилиндры, содержащие фильтровальную бумагу и среду Хетчинсона, производился посев чистой культуры *Cellvibrio vulgaris*. Цилиндры закрывались пробкой с двумя трубками. Через трубку, опущенную в синтетическую среду, пропускался воздух, освобожденный от углекислоты. Вторая трубка — отводящая, была соединена с поглотителем, содержащим раствор $Ba(OH)_2$. В течение всего срока опытов цилиндры находились в термостате при 28—30°.

Таблица 4

Образование CO_2 при разложении клетчатки

Культура	Вес исходн. клетчатки	% разложения	CO_2 в г	Продолжительность опыта
Cellvibrio vulgaris	1.646	6	0.11	3 дня
» »	1.131	6	0.057	3 »
» »	1.130	15	0.094	3 »
» »	1.576	9	0.097	3 »

В табл. 4 приведены результаты этих опытов. При разрушении клетчатки вибрионами выделяется много углекислоты; так, в одном из опытов в течение трех дней было образовано 0.094 г CO_2 при уменьшении веса клетчатки на 0.172 г. Выделение CO_2 происходит также при разложении целлюлозы *Cytophaga Hutchinsonii*, но значительно медленнее, чем в культурах *Cellvibrio*. В течение четырех дней в культуре *Cytophaga* было образовано 0.05 г CO_2. Это полностью соответствует тому, что быстрота, с которой эти организмы разлагают клетчатку, не одинакова.

Итак, в качестве единственного продукта разложения клетчатки была обнаружена углекислота. Следовательно, аэробные целлюлозные бактерии способны быстро окислять клетчатку (в чистой культуре, без участия других организмов) до углекислого газа.

Возможно, что при аэробном разрушении клетчатки возникают промежуточные продукты, уловить которые удастся при более тонких анализах.

Отсутствие сахаров и летучих кислот в чистых культурах целлюлозных бактерий полностью подтверждает результаты исследований Виноградского, который среди продуктов разложения клетчатки не обнаружил ни редуцирующих веществ, ни органических кислот. К не-

сколько иным выводам пришел Śnieszko, изучавший физиологию одного вида *Cellvibrio*. По его данным, при разрушении клетчатки в среде накапливаются значительные количества кислот. В одном из опытов разложение 0.390 г клетчатки сопровождалось образованием 0.11 г летучих кислот (по уксусной) и 0.20 г молочной кислоты. Возможно, что столь интенсивное кислотообразование составляет особенность только некоторых видов *Cellvibrio*. Существенно, что некоторые продукты разложения клетчатки, обнаруживаемые при изучении обогащенных культур, могут быть образованы не целлюлозными бактериями, а сопутствующими микроорганизмами, освободиться от которых довольно трудно. Среди этих спутников могут быть представители различных физиологических групп. Так, Hutchinson и Clayton в своих исследованиях обнаружили присутствие масляной кислоты в культурах *Spirochaeta cytophaga* (*Cytophaga Hutchinsonii*). По мнению Виноградского, к которому мы присоединяемся на основании своих наблюдений, это зависит от размножения возбудителей маслянокислого брожения в «чистой» культуре *Cytophaga*. Развитие посторонних микроорганизмов может привести к образованию продуктов, в частности кислот или газов, не возникающих совершенно в культурах целлюлозных бактерий. Возможно, например, что образование метана при брожении клетчатки связано не с деятельностью анаэробных целлюлозных бактерий, а с размножением сопутствующей бактерии, образующей метан (Meyer).

Обратимся снова к продуктам разложения целлюлозы в аэробных условиях. По мнению Виноградского, клетчатка под влиянием бактерий переходит в оксицеллюлозу, и это превращение изменяет красочные реакции целлюлозы. В то время как неизмененная бумага лучше окрашивается кислыми красками и хуже основными, участки фильтра, разрушенные целлюлозными бактериями, сильнее окрашиваются основными и слабее кислыми красками. Следуя методике Виноградского, мы помещали разрушенную клетчатку на 20 мин. в слабые растворы красок (1:2000). Из основных красок применялись: метиленблау, основной фуксин, генцианвиолет, из кислых: эритрозин, эозин, кислый фуксин. Окрашенные кусочки целлюлозы затем промывались продолжительное время водой.

В этой части исследований мы не могли подтвердить наблюдений Виноградского, так как постоянно разрушенные места бумаги окрашивались сильнее, чем неизмененная целлюлоза, независимо от того, производилось ли окрашивание кислой или основной краской. Такая хромофилия разлагающихся участков клетчатки может быть объяснена скоплением бактериальных клеток и слизи, а также изменением физических свойств полуразрушенных волокон целлюлозы. Что же касается слизистой массы, возникающей при разложении клетчатки *Cytophaga*, то на основании собственных наблюдений мы позволяем

высказать следующее предположение. Появление этой субстанции связано не с превращением клетчатки под влиянием бактерий в «органический гель» (Виноградский), а последний выделяется бактериями в виде слизи, а затем превращается в желеобразную массу[1]. Появление белого органического коллоида есть результат не деградации целлюлозы, а следствие синтетической деятельности клеток *Cytophaga*, продуцирующих слизь в большом количестве. Ее образование не может быть связано с превращениями клетчатки точно так же, как возникновение значительных скоплений слизи в культурах *Leuconostoc mesenterioides* не зависит от непосредственного превращения углеводов в вещество капсул этого организма.

Таким образом при разрушении клетчатки культурами *Cytophaga* было констатировано только образование углекислого газа и накопление неокрашенного «органического геля». Последнему приписывают известную роль в процессе образования гуминовых веществ почвы и присваивают название белого гумуса. Среди комплекса вопросов, связанных с проблемой гумуса, известный интерес представит детальное изучение природы этого бесцветного коллоида, а также возможность его дальнейшего разложения почвенными микроорганизмами.

Разложение клетчатки смешанными культурами

В 1926 г. Waksman, останавливаясь на современном состоянии вопроса о разложении клетчатки в почве, считал, что способность анаэробных бактерий разлагать целлюлозу в нормальной почве не является доказанной. Разрушение же клетчатки аэробными бактериями является твердо установленным фактом. Это положение было сформулировано им следующим образом: «There is no doubt that a large number of aerobic bacteria, including rods and cocci are capable of attacking cellulose...».

Прошло десять лет. За этот срок было с несомненностью доказано, что аэробные целлюлозные бактерии почвы являются если не единственными, то во всяком случае бесспорно главными представителями бактерий, разлагающих клетчатку в почве. Однако эта группа организмов оказалась не столь разнообразной, как предполагалось вначале. Виноградский в своих исследованиях, продолжавшихся в течение нескольких лет, не обнаружил ни одного спороносного вида. Не были изолированы также спороносные бактерии Stapp и Bortels при изучении целлюлозных бактерий лесных почв. Производя микроскопию многочисленных чашек с посевами почвы, мы ни

[1] Укажем на некоторые свойства этого вещества. Оно сравнительно легко растворимо в воде, быстро растворяется в 1% горячем растворе соды. Совершенно нерастворимо в спирте, эфире и ацетоне. Из профильтрованного водного раствора легко осаждается уксуснокислым свинцом, сернокислым железом или квасцами. Все эти свойства не противоречат нашим представлениям о растительной слизи.

разу не наблюдали развития спороносных бактерий или кокков, которых можно было бы отнести к организмам, разлагающим клетчатку. Повидимому, описанные в литературе споровые формы (Simola, Горовиц-Власова) встречаются редко или не выделяются при данной методике.

Таким образом наиболее распространенные целлюлозные бактерии могут быть объединены в две группы — миксобактерии с наиболее активными формами *Cytophaga* и представители рода *Cellvibrio*. Относящиеся к этим группам отдельные виды многочисленны, но среди них определенные формы доминируют в почве.

В разрушении целлюлозы в почве участвует ценоз различных организмов, о взаимоотношениях которых нам почти ничего не известно. Остановимся на некоторых наблюдениях, имеющих отношение к этому вопросу.

Изолируемые из почвы обогащенные культуры целлюлозных бактерий нередко состоят из двух организмов, разлагающих клетчатку. Обычно в такой культуре имеется *Cellvibrio* и *Cytophaga*, присутствие которых устанавливается на основании данных микроскопии. Характер роста также имеет значение. При посеве такой смешанной культуры в пробирки с полосками фильтровальной бумаги последние быстро разрушаются на уровне жидкости — этот признак характерен для вибрионов, так как *Cytophaga* не дает таких изменений бумаги.

В посевах смешанной культуры на фильтре, находящихся на пластинках кремнекислого геля, вибрионы развиваются раньше и быстро распространяются по поверхности бумаги. Поэтому при микроскопии материала, взятого из периферических частей, пятна обнаруживаются почти исключительно *Cellvibrio*, на участках же бумаги, «пройденных» вибрионами, начинает развиваться *Cytophaga*. В таких симбионтных культурах, выделенных непосредственно из почвы, разложение клетчатки происходит в две фазы — для первой характерно неглубокое, типичное для вибрионов разрушение целлюлозы, для второй — полный лизис волокон, характерный для *Cytophaga*.

Не приобретает ли *Cytophaga* в симбиозе с другими целлюлозными бактериями способности разлагать клетчатку в присутствии иных углеводов? Для выяснения этого вопроса к среде Хетчинсона с клетчаткой была добавлена глюкоза в количестве 0.5%. При этой концентрации, как уже указывалось, *Cytophaga* в чистой культуре на клетчатке не развивается. В пробирки, содержащие эту среду, были произведены посевы чистой культуры *Cytophaga Hutchinsonii* и *Cellvibrio vulgaris*. Оказалось, что в такой экспериментально созданной смешанной культуре *Cytophaga* прекрасно развивается и в средах, содержащих глюкозу. Если мы сопоставили этот факт со способностью вибрионов развиваться быстрее, чем *Cytophaga*, а

также с тем, что такие смешанные культуры выделяются из почвы, то такое нейтрализующее действие *Cellvibrio*, направленное к уничтожению следов растворимых углеводов, содержащихся в растительных остатках, возможно, играет некоторую роль при разложении целлюлозы. В основе этого явления лежит различное отношение этих групп целлюлозных бактерий к углеводам.

Теперь о бактериях, сопутствующих *Cytophaga*. Ранее указывалось, что, очищая обогащенные культуры *Cytophaga*, довольно быстро удается свести количество посторонних бактерий до одного вида. Но освободиться от этого спутника настолько трудно, что по отношению к амикроцистным формам это оказалось невозможным. Из очищенных культур *Cytophaga* было выделено несколько штаммов таких посторонних, не разлагающих целлюлозу, бактерий. Все они относятся к неспоровым подвижным палочкам, среди которых имелись денитрифицирующие виды. Две бактерии были идентифицированы с *Flavobacterium flavescens* и *Pseudomonas scissa;* систематическое положение других пока не установлено.

Постоянное присутствие этих бактерий-спутников, их значительное сходство и те трудности, которые возникали при разделении смешанной культуры, — все это говорило против случайного загрязнения культуры *Cytophaga*. Естественно было предположить, что между бактериями, разлагающими клетчатку, и сопутствующими формами имеется определенная связь. Когда были получены чистые культуры целлюлозных бактерий, мы получили возможность изучить влияние бактерий-спутников на рост *Cytophaga*. Методика этих опытов заключалась в том, что взвесь клеток *Cytophaga Hutchinsonii* и *Cytophaga ellipsospora* вносилась в среду Хетчинсона с клетчаткой. В каждом опыте было три серии пробирок. В первую производился подсев сопутствующей бактерии, изолированной из смешанной культуры того вида *Cytophaga*, который был уже посеян в пробирку. В часть пробирок вносилась культура бактерии-спутника, выделенной из культуры другого вида *Cytophaga*. Третья серия была контрольной — без подсева неспоровых палочек.

В табл. 5 приведены условия и результаты одного из этих опытов.

Результаты относящихся сюда опытов позволяют сделать следующие выводы:

1. *Cyt. Hutchinsonii* и *Cyt. ellipsospora* в симбиозе с неспоровыми палочками развивается быстрее и интенсивнее разлагает клетчатку, чем в чистых культурах.

2. В некоторых случаях *Cyt. ellipsospora* в чистой культуре не развивается совершенно, тогда как в присутствии бактерии-спутника рост наблюдается постоянно.

Таблица 5

Развитие *Cytophaga* в чистых и смешанных культурах
(Посев водной взвеси клеток *Cytophaga* в среду Хетчинсона с клетчаткой)

Культуры	1	2	3	4	5	6	7	8	Примечание
Cytophaga ellipsospora (чистая культура)	—	—	—	—	—	—	—	10	
Cytophaga ellipsospora + собственный спутник	—	3	3	3	3	3	3	3	В дальнейшем быстрый рост на клетчатке
Cytophaga ellipsospora + спутник другого вида	3	3	10	3	2	3	3	3	Размножение более медленное

Цифры соответствуют дням, когда появились первые признаки развития.

3. Присутствие собственного спутника оказывает более благоприятное влияние на размножение *Cytophaga*, чем бактерии, изолированной из культуры *Cytophaga* другого вида.

Эти опыты подтвердили ранее сделанные нами наблюдения. При выделении чистых культур *Cytophaga* производился посев очищенной культуры, нагретой до известной температуры (см. стр. 17). Уже тогда было отмечено, что развитие в пробирках, в которые предварительно была внесена сопутствующая бактерия, происходило гораздо чаще, чем при посеве в стерильную среду.

Таким образом неспоровые бактерии, постоянно выделяющиеся из почвы одновременно с целлюлозными, стимулируют развитие *Cytophaga*. Иногда последняя вообще не развивается без симбионта, но это зависит, повидимому, от количества и возраста внесенного посевного материала, — если его много, то *Cytophaga* обычно размножается. Вероятно, что такие отношения между двумя видами бактерий исторически сложились в том ценозе, который разрушает клетчатку в почве. Механизм такого благоприятного действия сопутствующих бактерий на интенсивность разложения целлюлозы остается пока неясным. Укажем, что для ускоренного роста *Cytophaga* необходим живой спутник, так как внесение в среду взвеси убитых нагреванием бактерий или дрожжей, а также незначительных количеств бульона не отражается на размножении целлюлозных бактерий.

Итак, наши представления о биохимической активности микроорганизмов, основанные на изучении чистых культур, не всегда соответствуют действительности. Микроорганизмы, элиминированные из окружающей их среды, в частности лишенные постоянных симбионтов, могут оказаться не только более или менее активными, но даже утратить некоторые наиболее типичные для них свойства

(Meyer). Что касается *Cytophaga*, то необходимо отметить, что более интенсивный рост этого организма в смешанных, а не в чистых культурах — явление обычное для *Myxobacteriales*. Такая стимуляция может быть выражена довольно резко. Это уже было отмечено в исследованиях Vahle, Pinoy и нашло подтверждение в наших (еще не опубликованных) наблюдениях над миксобактериями.

Выводы

1. Аэробные бактерии, разлагающие клетчатку в почве, могут быть объединены в две группы — миксобактерии и вибрионы.

2. К миксобактериям относятся *Polyangium cellulosum* nov. sp., образующий на клетчатке типичные плодовые тела, и микроорганизмы, принадлежащие к роду *Cytophaga*. Из отдельных представителей этого рода были выделены в чистой культуре и изучены *Cytophaga Hutchinsonii* Winogr. и *Cytophaga ellipsospora* nov. sp.

3. Циклы развития *Cytophaga* и миксококков аналогичны. Тонкие с заостренными концами вегетативные клетки, постепенно сокращаясь, превращаются в формы покоя (микроцисты), которые способны прорастать, давая молодые клетки. История развития, строение протопласта, группировка клеток с образованием скоплений (псевдоплазмодий) и другие признаки позволяют отнести *Cytophaga* к миксобактериям. Возникновением в культурах *Cytophaga* микроцист объясняются сообщения о смешанных культурах целлюлозных бактерий, состоящих из палочек и кокков.

4. Изолированные виды *Cytophaga* — облигатные целлюлозные бактерии, так как они способны утилизировать только углерод клетчатки. Волокна целлюлозы при этом разрушаются полностью с образованием слизи. На обычных средах и субстратах с другими углеводами *Cytophaga* не развивается. Углеводы действуют антисептически и в их присутствии рост *Cytophaga* на клетчатке угнетается. При более высоких концентрациях углеводов развития нет совершенно.

5. Разложение целлюлозы культурами *Cytophaga* может происходить и при ограниченном доступе кислорода, но в этих условиях оно протекает значительно медленнее.

6. Другую, также весьма распространенную в почве группу целлюлозных бактерий составляют *Cellvibrio*. Последние являются менее специализированными формами, чем *Cytophaga*, и развитие их возможно не только на клетчатке, но и на средах с другими углеводами. Сюда относятся типичные вибрионы с униполярным жгутиком, не образующие пигмента или дающие на бумаге окрашенные пятна. Вибрионы быстро разлагают целлюлозу, но их действие менее глубокое и лизиса отдельных волокон не происходит. Они менее чув-

ствительны к сахарам и только значительные концентрации последних задерживают их развитие на клетчатке. *Cellvibrio* - строгие аэробы, не развиваются при 37°, предпочитая более низкие температуры, и неустойчивы к высыханию и высоким температурам.

7. Из почвы были изолированы представители только двух вышеуказанных групп микроорганизмов. Другие, описанные в литературе целлюлозные бактерии: спороносные палочки, кокки, *Cellfalcicula*, *Cellulomonas*, *Itersonia* и др.—совершенно не встречались в почве.

8. Быстрое разрушение клетчатки возможно только в аэробных условиях. При свободном доступе воздуха *Cytophaga ellipsospora* nov. sp. разлагает в течение 10 дней 46% целлюлозы. Сахара, спирт и летучие кислоты в культурах *Cytophaga* и *Cellvibrio* не были обнаружены. Разложение клетчатки аэробными бактериями сопровождается выделением значительных количеств углекислого газа. Возникновение в культурах *Cytophaga* слизистой массы, повидимому, связано с синтетической деятельностью микроорганизма, клетки которого продуцируют слизь.

9. Выделяемые из почвы культуры *Cytophaga* обычно содержат сопутствующую неспороносную бактерию. Последняя стимулирует рост *Cytophaga* и разложение клетчатки.

10. В работе имеется описание методики, применявшейся при изучении целлюлозных бактерий, а также перечислены требования, которым должны удовлетворять чистые культуры и способы их получения.

Академику Г. А. Надсону выражаем глубокую благодарность за данные им советы.

Институт микробиологии.
Академия Наук СССР.
Москва.

ЛИТЕРАТУРА

1. Baur E., Myxobakterien-Studien. Arch. f. Protist., Bd. 5, 1905, S. 92.
2. Bayne-Jones S. and Petrilli A., Journ. Bact., vol. 25, 1933, p. 261.
3. Bokor M., Myxococcus cytophagus nov. sp. (Spirochaeta cytophaga Hutch. & Cl.). Arch. f. Mikrob., Bd. 1, 1931, S. 1.
4. Bojanowsky R., Zweckmässige Neuerungen für die Herstellung eines Kieselsäure — Nährbodens und einige Beiträge zur Physiologie aerober Zelluloselöser. Ctbl. f. Bakt. Abt. 2., Bd. 64, 1925, S. 222.
5. Dubos R., The decomposition of cellulose by aerobic bacteria. Journ. of Bact., vol. 15, 1928, p. 223.
6. Gescher N., Über zellulosezersetzende Bakterien. Faserforschung. Bd. 2, H. 1, 1922, S. 28.
7. Horowitz-Wlassowa L., Zur Frage der aeroben Zellulosezersetzung. Ctbl. f. Bakt. Abt. 2, Bd. 93, 1936, S. 347.
8. Gray P. & Chalmers C., On the Stimulating Action of Certain Organic Compounds on Cellulose Decomposition by Means of a New Aerobic Microorganism that Attacks both Cellulose and agar. Ann. of Appl. Biol., vol. 11, No. 3—4, 1924, p. 325.

9. Groenwege J., Untersuchungen über die Zersetzung der Cellulose durch aerobe Bakterien. Extr. du Bull. du Jardin Bot. de Buitenzorg. Sér. IV, t. 2. Fasc. 3, 1920, p. 261, реф. Ctbl. f. Bakt. Abt. 2., Bd. 53, 1921, S. 414.
10. Hutchinson H. & Clayton J., On the Decomposition of Cellulose by an Aerobic Organism. Journ. of Agric. Sci., vol. 9, 1919, p. 143.
11. Исаченко Б. и Вакенгут А., Несколько наблюдений над циклом развития организма, разлагающего клетчатку. Арх. Биол. Наук, т. 32, вып. 5—6, 1932, стр. 476.
12. Van Iterson G., Die Zersetzung von Cellulose durch aerobe Mickroorganismen. Ctbl. f. Bakt. Abt. 2, Bd. 11, 1904, S. 689.
13. Jahn E., Beiträge zur botanischen Protistologie I. Die Polyangiden. Leipzig, 1924.
14. Judowicz Z., Spostizezenia nad drobnou strojami tlenowemi rozkladajacemi blonnik. Med. Doswiadi Spol. (Warszawa), t. 15, 1932, p. 64.
15. Kellermann K. & Mc. Beth J., Soil Organisms which Destroy Cellulose. Ctbl. f. Bakt. Abt. 2, Bd. 34, 1912, S. 63 u. S. 485.
16. Kellermann K., Mc. Beth J., Scales F. & Smith N., Identification and Classification of Cellulose-Dissolving Bacteria. Ctbl. f. Bakt. Abt. 2, Bd. 39, 1913, S. 502.
17. Krzemieniewska H., Le cycle évolutif de Spirochaeta cytophaga. Acta Soc. Bot. Pol., vol. 7., 1930, p. 507.
18. Krzemieniewska H., Contribution à l'étude du genre Cytophaga (Winogradsky). Arch. f. Mikrob., Bd. 4, 1933, S. 394.
19. Krzemieniewska H. i Krzemieniewsky S., Miksobakterje Polski. Acta So. Bot. Pol., vol. 4, No. 1, 1926, p. 1.
20. Krzemieniewska H. i Krzemieniewsky S., Rozsiedlenie miksobacteryi. Acta Soc. Bot. Pol., vol. 5, 1927—1928, p. 79, 102.
21. Koffler L., Die Myxobakterien der Umgebung von Wien. Sitzber. Wien. Akad. Mat. Nat. Kl., Bd. 122, 1913, S. 845.
22. Малиянц А., Микробиологическое исследование грунта Каспийского моря, 1933, Баку — Москва.
23. Meyer V., Zur Kenntnis zellulosezersetzender Sporenbilchier aus der Bacillus Omelianski- und Bacillus macerans-Gruppe. Ctbl. f. Bakt. Abt. 2, Bd. 92, 1935, S. 1.
24. Pettger L. & Gillespie H., Bacterial Variation: an inquiry into the inderlying principles governing the cell morphology of Bacillus negatherium. Journ. of Bact., vol. 30, 1935, p. 213.
25. Pinoy P., Sur les myxobacteries. Ann. Inst. Past., t. 35, 1921, p. 487.
26. Quel A., Untersuchungen über die Myxobakterien. Ctbl. f. Bakt. Abt. 2, Bd. 16, 1906, S. 9.
27. Pippel A., Flehmig T., Untersuchungen über den aeroben Cellulosezersetzer Itersonia ferruginea. Arch. f. Mikrob., Bd. 4, 1933, S. 229.
28. Роницкая А., Фазы жизненного процесса почвенного целлюлозоразрушающего микроба Spirochaeta cytophaga и распространение его в почвах Украины. Почвоведение, № 3, 1933, стр. 209.
29. Sack J., Cellulose angreifende Bakterien. Ctbl. f. Bakt. Abt. 2, Bd. 62, 1924, S. 77.
30. Scales F., A New Method of Preparing Cellulose for Cellulose Agar. Ctbl. f. Bakt. Abt. 2., Bd. 44, 1915, S. 661.
31. Simola P., Über die aerobe Gärung der Cellulose. Suomen Kemistilenti. Acta Chem. Fenn. No. 3, 1930, p. 45.
32. Simola P., Über die Abbau der Cellulose durch Mikroorganismen. Ann. Akad. Sci. Fenn., vol. 34, 1931, No. 1—6.
33. Śnieszko S., Some Experiments on the Aerobic Cellulose Decomposing Bacteria. Acta Soc. Bot. Pol. vol. 11, 1934, p. 51.

34. Stapp C. u. Bortels H., Mikrobiologische Untersuchungen über die Zersetzung von Waldstreu. Ctbl. f. Bakt. Abt. 2, Bd. 90, 1934, S. 28.
35. Thaxter R., On the Myxobacteriaceae, a New Order of Schizomycetes. Bot. Gaz., vol. 17, 1892.
36. Thaxter R., Further Observation on the Myxobakteriaceae. Bot. Gaz., vol. 33, 1897.
37. Waksman S. and Casey C., The Use of the Silica Gel Plate for Demonstrating the Occurrence and Abundance of Cellulose-decomposing Bacteria. Journ. of Bact., vol. 12, 1926, p. 87.
38. Waksman S. & Skinner C., Mikroorganisms Concerned in the Decomposition of Cellulose in the Soil. Journ. of Bact., vol. 12, 1926, p. 57.
39. Winogradsky S., Étude sur la microbiologie du sol, 1er mémoire. Ann. Inst. Past. t. 34, 1925, p. 353.
40. Winogradsky S., Sur la décomposition de la cellulose dans le sol. Comt. Rend. Ac. Sci. Paris, t. 183, 1926, p. 691.
41. Winogradsky S., Etudes sur la microbiologie du sol, 4-me mémoire sur la dégradation de la cellulose dans le sol. Ann. Inst. Past., t. 43, 1929, p. 549.
42. Winogradsky S., Sur la décomposition aérobic de la cellulose par les bacteries. Travaux récentes. Bull. Inst. Past., t. 30, 1932, p. 369.
43 Vahle C., Vergleichende Untersuchungen über die *Myxobacteriaceen* und *Bakteriaceen* sowie die *Rhodobakteriaceen* und *Spirillaceen*. Ctbl. f. Bakt. Abt. 2. Bd. 25, 1900, S. 178.

A. IMŠENECKI and L. SOLNTZEVA. ON AEROBIC CELLULOSE-DECOMPOSING BACTERIA

SUMMARY

The purpose of the investigation was to study the morphology, the development and the systematical position of aerobic cellulose-decomposing bacteria. In order to obtain enriched cultures, particles of soil were placed on plates of silica gel with filter-paper saturated with Hutchinson medium. By means of repeated selection from the edge of coloured or colourless spots which appeared on the paper (table II, *1*) a purification of the cultures was obtained. Pure cultures of *Cytophaga* were only obtained by heating an aqueous emulsion of microcysts to a temperature which killed the accompanying non-sporiferous bacteria.

A number of other methods used for obtaining pure cultures did not give the desired results. The obtaining of pure cultures of *Cellvibrio* is facilitated by their capacity of forming isolated colonies on dense media (cellulose agar, starch agar).

Isolated bacteria may be referred to two groups — the *Myxobacteriales* and the genus *Cellvibrio*. To the *Myxobacteriales* is referred *Polyangium cellulosum* nov. sp. which forms orange spots on paper, on which brown fruit bodies are formed later (table II, *2*). Separate vegetative cells of these bacteria are shown on fig. 1 and 2, and those contained in the cellulose fiber — on fig. 3. The cells are mobile, but are deprived of locomotive organs. Gathering into groups they form pseudoplasmodium, and from gradually shortening cells cysts are formed (fig. 4) which subsequently produce fruiting

bodies (fig. 5). Two species of *Cytophaga* were also obtained in pure culture from the soil. One of these species, *Cytophaga Hutchinsonii* Winogr. (*syn. Spirochaeta cytophaga* Hut. a. Cl. *Cyt. myxococcoides* Krz. *Cyt. globulosa* St. and Bort.) produces a yellow pigment (table II, *3*) and has the following life cycle as studied on cellophane plates. The young slightly curved cells with pointed ends (table I, *1* and *2*) are transformed into shortened cells with rounded ends — the intermediary forms of the first order (table I, *3*). Shortening and thickening they become intermediary forms of the second order (table I, *4*). The latter are transformed into round, slightly shining microcysts (table I, *5*). Germinating the microcysts develop a cell-like «shoot» which gradually elongates, while the membrane becomes slimy and disappears (table I, *6*, *7*, *8*). A scheme of the life cycle of *Cytophaga Hutchinsonii* is represented on fig. 7. Not all cells of the cultures undergo these transformations simultaneously. On fig. 6 various forms may be found that are included in the cycle of development of *Cytophaga*. The other species — *Cytophaga ellipsospora* nov. sp. produces an orange pigment (table II, *4*) and differs from the former species in so far that the microcysts of this culture have an oval shape. The history of the development of this organism is the same as that of *Cyt. Hutchinsonii* (table I, *10*, *11*, *12*, *13*).

Both species of the *Cytophaga* form spherical accumulations, consisting of intermediary forms and microcysts (fig. 8). However, this grouping of cells (pseudoplasmodium) does not terminate with the formation of completely shaped fruiting bodies.

The physiological characters of these two species of *Cytophaga* closely resemble each other. They are obligatory cellulose-decomposing bacteria and their development is only possible on media with cellulose.

Other carbohydrates not only cannot be assimilated, but hinder the development of the organism on the cellulose. The newly found *Cyt. ellipsospora* proved more susceptible in regard to sugar than *Cyt. Hutchinsonii*. According to the degree of their «antiseptic» action the carbohydrates may be placed in the following order: levulose, xylose, arabinose, glucose, galactose, maltose, the slightest action is produced by saccharose. Under the influence of sugar the cells change their form and acquire an involutional character (table I, *9*).

Nitrate, sulphate of ammonium and peptone may serve as a source of nitrogen for *Cytophaga*. Peptone in high concentrations hinders its growth. As a weak development of the *Cytophaga* is possible also in media without nitrogen, at the expense of traces of organic nitrogen in the cellulose, these organisms may be referred to the oligonitrophilous. Developing on media with nitrates the *Cytophaga* does not reduce them.

The representatives of the genus *Cytophaga* are not strictly aerobic. They are capable of decomposing cellulose with a limited access of oxygen. Thus, their development is possible on pieces of paper placed on the bottom of a test-tube, in which the height of the column of synthetic medium reaches 12—13 cm.

The optimum temperature for the growth of *Cytophaga* is 25—28°; at the temperature of 37° there is but a slight development. The microcysts *Cytophaga Hutchinsonii* exposed to a temperature of 68° perish in 10 min., while those of *Cytophaga ellipsospora* perish at a temperature of 58°. The microcysts are very stable in regard to drying and preserve the capacity of germinating after having been in a dry state for 90 days.

When the vegetative cells of the *Cytophaga* penetrate into the fiber (fig. 9) they destroy it layer after layer and instead of the fiber there remains a slimy laminous substance in which the *Cytophaga* cells are contained, the latter being chiefly at the stage of microcysts (fig.11). In this way a complete lysis of the cellulose fibers is possible, caused by the pure culture of one species of bacteria without the participation of other microorganisms. On cellulose agar those places where the *Cytophaga* develops and where the cellulose is entirely decomposed have a most characteristic appearance (fig. 10). Besides *Cytophaga* which formes microcysts, there are obtained species from the soil that are not capable of assuming this stage of rest (fig. 12, 14): they may be considered as an amicrocyst form, having lost the capacity of forming microcysts. It may be that certain species exist in nature in two varieties, as there has been isolated from the soil a *Cytophaga* yielding a yellow pigment and differing from the *Cyt. Hutchinsonii* in the absence of microcysts only.

The cycle of development is analogous to that of the *Mixococcus:* the formation of pseudoplasmodium, the division of cells by a construction, the oscillatory character of the motion (absence of flagellae), a different structure of the protoplast than in other bacteria — all this makes it possible to refer the *Cytophaga* to the *Myxobacteriales*. It is from this group of organisms — which takes such an active part in the decomposition of vegetative remains — that specialized forms have arisen, as a result of adaptation, which are capable of utilizing the carbon of cellulose only.

The representatives of the genus *Cellvibrio* form quite an individual group of cellulose-decomposing bacteria. A close investigation in this group was made of the *Cellvibrio vulgaris* St. a. Bort. These are typical gram-negative vibrions with an unipolar flagellum (fig. 15, 16); they do not produce any pigment, rapidly develop on cellulose, causing a rupture of the strip of filter-paper on the second day (fig. 17) and destroying the paper filter in the course of three days (fig. 18)

Cellvibrio vulgaris is referred to facultative cellulose-decomposing bacteria, as it develops on media containing starch and different kinds of sugar, and forms small round colonies. This microorganism does not develop at 37°, preferring lower temperatures. It rapidly perishes when dried, is strictly aerobic, causes hydrolysis of starch and reduces nitrates to nitrites. The destruction of the cellulose in the presence of other carbohydrates is possible, however sugar exercises a depressing influence on the process. Besides *Cellvibrio vulgaris* other vibrions were also isolated decomposing paper with the formation of yellow, pink or green spots. The vibrions are propagated on cellulose and destroy it more rapidly than *Cytophaga*, but this action is less deep, not producing a complete lysis of the fibers of cellulose. The intensity of destruction of the tissue by the cellulose-decomposing bacteria is chiefly determined by aeration. In a culture of *Cellvibrio vulgaris*, through which air was blown, 10% of the cellulose was destroyed in the course of four days, while in the control (without aeration) only 3.8% were destroyed during the same period. In dishes with silica gel *Cytophaga* decomposes up to 46% of the cellulose in the course of 10 days, while in flasks only 7.4 to 10% are decomposed during the same period. The analyses made showed that in the case of aerobic decomposition of cellulose by bacteria neither sugar, nor alcohol or acid are formed. The destruction of the cellulose is accompanied by the evolution of a considerable amount of carbonic dioxyd. For instance, when 0.172 of the cellulose was destroyed by the vibrions, there was formed 0.094 of CO_2. In the cultures of *Cytophaga* the lysis of fibers is accompanied by the formation of a gelatinous mass. Evidently, the accumulation of this «white humus» is connected not with a degradation of the cellulose, but with the synthetic activity of the *Cytophaga* cells producing slime in great quantities. The parts of the paper that are being destroyed become chromophyllous and assume a deeper colour than the unchanged cellulose both in regard to basic and acid colours.

Mixed cultures of cellulose-decomposing bacteria consisting of *Cellvibrio* and *Cytophaga* are often separated from the soil. In such symbiont cultures the decomposition of the cellulose proceeds in two phases: the first, earlier stage is characterised by a usually not deep decomposition of the cellulose; the second stage — by a complete lysis of the fibers, typical for *Cytophaga*. The *Cytophaga* cultures in combination with *Cellvibrio* acquire the capacity of decomposing cellulose in the presence of other carbohydrates. Enriched cultures of *Cytophaga* always contain accompanying bacteria. The presence of these bacteria is not due to casual contamination. They are symbiont microbes. In their presence the propagation of *Cytophaga* and the decomposition of the cellulose proceed at a quicker rate than in pure cultures. If a small amount of the inoculated material is introduced it happens sometimes that

the *Cytophaga* does not develop in the pure culture, while a simultaneous inoculation of the *Cytophaga* with the accompanying bacteria always produces growth. The investigating of numerous dishes with particles of soil on cellulose under the microscope did not reveal the presence of any sporiferous bacteria or cocci that would be capable of decomposing cellulose.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

Г. К. БУРГВИЦ и Е. С. НАЗАРОВА

О ДЕЙСТВИИ ИНФРАКРАСНЫХ ЛУЧЕЙ НА ГРИБКИ, РАЗРУШАЮЩИЕ ДРЕВЕСИНУ

(Представлено академиком Г. А. Надсоном)

В настоящей статье изложены результаты исследования, произведенного Микробиологическим институтом Академии Наук СССР по предложению Научно-исследовательского института механической обработки древесины.

Мало изученное в биологическом отношении действие инфракрасных лучей исследовалось на чистых культурах грибков *Poria vaporaria* и *Merulius lacrymans* разных возрастов и при различных условиях облучения.

Инфракрасные лучи обладают на основании полученных данных, видимо, не только тепловым, но и электромагнитным действием. Слабое воздействие инфракрасных лучей стимулирует исследованные грибки, а более значительное — угнетает их или вызывает гибель.

Изучение биологического действия лучистой энергии проводилось в последнее время очень широко в отношении лучей с короткой длиной волны (ультрафиолетовые, лучи Рентгена и др.), как обладающих, по существующим мнениям, наибольшей эффективностью действия. Наоборот, лучи с длинной волной, в частности инфракрасные, изучались относительно мало. Действие последних в большинстве случаев объясняют тепловым эффектом, и только Гейслер (10) впервые привел доказательства бактерицидных свойств лучей инфракрасной части спектра. Мнение Гейслера было подтверждено затем также Визнером (12). Им было установлено, что при одной и той же интенсивности облучения действие сильнее при более высокой и слабее при более низкой окружающей температуре. Физаликс и Пастер в последнее время испытали действие инфракрасных лучей на яд гадюки. Токсичность яда от этого не изменялась, но понижались его антигенные свойства.

На высшие растения, по данным Фуллера (9), инфракрасные лучи оказывают неблагоприятное действие.

В некотором противоречии стоят краткие данные Ячевского (8), не установившего действия инфракрасных лучей на грибы. В результате различной длительности облучения инфракрасными лучами чистых культур *Penicillium* (*P. glaucum*, *P. digitatum*, *P. insectivo-*

rum), *Aspergillus glaucus, Botrytis cinerea, Rhizopus nigricans, Mucor racemosus* отмечено развитие культур, а также способность их спор развиваться в дальнейшем; так, например, споры головни после облучения дали 100% прорастание. Констатируя в этих опытах факт роста, автор, к сожалению, не указывает, имели ли в культурах место макроскопические или микроскопические изменения.

Нашей задачей было проследить действие инфракрасных лучей на чистые культуры грибков, разрушающих древесину *Poria vaporaria* и *Merulius lacrymans*, для использования в дальнейшем полученных данных в борьбе с этими грибками[1].

Таблица 1

Температура в °C	Условие	Колич. падающей энергии в $\frac{\text{г-кал}}{\text{см}^2\ \text{мин.}}$
25	Без вентилятора	0
27		0.1
30		0.25
59		1.5
69		1.8
79		3.0
89		3.0
115		5.0
27	При действии вентилятора	1.6
37		2.6
43		2.8
45		3.0
59		4.4
69		7.0
37	Через слой древесины 1.8 см	0.3
45		0.7
37	Через слой древесины 3.6 см	0.2
45		0.65

Методика. Облучению подвергались чистые культуры *Poria vaporaria* и *Merulius lacrymans* в возрасте от 2 суток до 150 дней. Грибки культивировались на среде Флерова и Попова (6)[2], оказавшейся по нашим предварительным опытам наиболее благоприятной средой как для развития контрольных культур, так и для проверки жизнеспособности облученных грибков. Влажность среды, вместо 40—50% по Флерову и Попову, была нами увеличена до 60%, чем достигалось лучшее развитие грибков. Кроме среды Флерова-Попова, мы в отдельных случаях применяли также мальц-экстракт с агаром[3].

Генератором инфракрасных лучей служила электрическая отражательная печь зав. «Электрик» с нихромовой спиралью. Значительная часть спектра, излучаемого спиралью, по данным физика

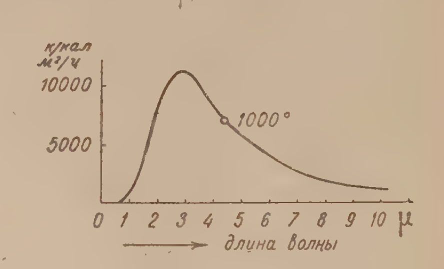
[1] Изучение действия инфракрасных лучей на эти грибки в древесине проводилось Центральным Научно-исследовательским институтом механической обработки древесины.

[2] Среда Флерова и Попова: в колбы Эрленмейера (широкогорлые) вносится садовая просушенная и просеянная почва слоем в 2 см; поверх почвы вносятся сосновые опилки; среда увлажняется водой до 40—50% от общего веса (почвы и опилок); стерилизация 30 мин. при 120°.

[3] Воды 1000.0, мальц-экстракта 10.0, пептона 25.0, агар-агара 20.0; стерилизация 20 мин. при 120°.

М. М. Зеленина, состоит из лучей с длиной волны от 1 до 10 μ, причем максимум энергии падает на длину волны в 3 μ (фиг. 1). Количество падающей на облучаемый объект энергии определялось по показаниям актинометра (системы Калитина). Данные этих измерений в абсолютных единицах сопоставлены в табл. 1. Количество падающей в минуту на 1 см² энергии колебалось в различных опытах от 0.1 до 7 мал. калорий.

Мощность потока энергии регулировалась в опытах путем установки генератора на определенном расстоянии от облучаемого объекта, так как изменение расстояния сопровождается соответствующим изменением количества энергии, падающей на облучаемую поверхность.



Для облучения культура грибков, в большинстве случаев на опилках в количестве от 0.5 до 2.0 г, помещалась в стерильную чашку Петри на диск фильтровальной бумаги, предварительно увлажненный стерилизованной водопроводной водой (для устранения влияния высушивания); чашка затем накрывалась сухой тонкой фильтровальной бумагой или, обычно, стеклянной крышкой, пропускающей лучи до 3.5 μ длины волны. Материал вводился в поле облучения после того, как радиация генератора устанавливалась постоянной на требуемом уровне в продолжение не менее 15 мин. Все облучения были проведены при режиме генератора в пределах 108—112 V и 5.0—5.2 A.

После облучения грибки высевались в двух повторных пересевах, в большинстве случаев, на среду Флерова-Попова и выдерживались при 20—23° не менее одного месяца; лишь очень небольшое количество культур было выдержано 20 дней.

Для выяснения биологического действия инфракрасных лучей были проведены параллельные опыты действия только одного конвекционного тепла. Практически это достигалось помещением культур в термостат с соответствующими температурами и на соответствующее время.

С другой стороны, были проведены серии облучений, в которых тепловое действие лучей снижалось потоком воздуха от электровентилятора, т. е. увеличением теплоотдачи облучаемым объектом путем конвекции. Устранение в известной степени нагрева дало возможность приблизить генератор к облучаемому объекту и тем самым увеличить количество падающей энергии (мощность), не сопровождая это повышением температуры. Затем было проведено

культивирование агаровых культур грибков в течение до 25 суток при 20—23°, 23—25° и 25—27° в условиях непрерывного их облучения инфракрасными лучами. Каждые 1—2 суток производились отвивки на новую среду, развитием на которой определялась жизнеспособность грибка.

Помимо непосредственного облучения, было проведено облучение культур грибков через древесный фильтр из непораженных сосновых досок толщиной от 1.8 до 3.6 см, с влажностью досок при первом облучении 18%. При этом необходимо иметь в виду, что древесина толщиной в 2 см поглощает около 99% инфракрасных лучей (данные Ульянова и Зеленина). Нагревшись, древесина становится источником вторичного излучения, спектр которого отличается от спектра первичного облучения.

Облучения производились в Лаборатории лучистой энергии биогруппы Академии Наук СССР с участием ее сотрудников и заведующего лабораторией П. Н. Ульянова.

Таблица 2

Возраст культуры	На какой среде	Температура облученной древесины в °С	Колич. падающей энергии в г-кал/(см² мин.)	Продолжительность облучения	Результаты
2 сут. 17 »	Мальц-экстракт-агар	30 30	0.25 0.25	5′ 10′ 15′ 35′ 45′ 60′ 15′ 45′ 120′	После облучения 5—15 мин. более интенсивное развитие; после 30 мин. как контроль; после 45 мин. — задержка; после 60 мин. — значительное ослабление
39 сут. 76 »	Флерова-Попова	27	0.1	5′ 30′ 75′	Как контроль
40 сут. 84 »	Флерова-Попова	25	0	5′ 30′ 75′	Как контроль
90 сут. 60 » 12 »	Флерова-Попова	59	1.5	5′ 15′ 30′ 45′ 75′	После 5 мин. облучения — задержка развития; после 5—30 мин. — возрастающая задержка развития; после 45 мин. — следы роста; после 75 мин. — роста нет
120 сут. 37 »	Флерова-Попова	69	1.8	5′ 15′ 30′	После 5 мин. облучения — гибель
120 сут. 38 »	Флерова-Попова	79	3.0	5′ 15′ 30′	После 5 мин. облучения — гибель
120 сут. 42 »	Флерова-Попова	89	3.0	5′ 15′ 30′	После 5 мин. облучения — гибель
100 сут. 23 »	Флерова-Попова	115	5.0	2′ 5′ 15′	После 2 мин. облучения — гибель

I. Poria vaporaria

1. Облучение культур

Условия опытов представлены в табл. 2.

Результаты. Облучение культуры *P. vaporaria* (2—4-дневной на мальц-экстракте с агаром и 17-, 39- и 76-дневной на среде Флерова-Попова) потоком инфракрасной радиации мощностью в 0.25 г-кал отражается на дальнейшем развитии культуры в зависимости от экспозиции. После 5—15-минутного облучения грибок развивается по сравнению с необлученной культурой интенсивнее. Тогда как в облученной культуре на четвертые сутки развивается белый, пушистый, воздушный мицелий, в необлученной — рост слабее или даже отсутствует. Эта разница сохраняется и в дальнейшем (10—12 дней). Облученные 30-минутные культуры в некоторых случаях не отличались от необлученных, в других — обнаруживали небольшое усиление роста, которое через несколько дней выравнивалось с контролем. 45-минутное облучение задерживает развитие грибка. При этом, помимо угнетения роста, изменяются и культуральные его признаки: мицелий вместо пушистого, воздушного, становится плоским и прижатым к субстрату.

Облучение в продолжение одного часа (культуры на мальц-агаре) влечет за собой значительное ослабление роста, вдвое уступающее необлученной культуре. На среде Флерова-Попова действие было слабее; при этом 39-дневная культура была более угнетена, чем 76-дневная. После 2-часового облучения культуры на среде Флерова-Попова в течение двух месяцев не давали развития.

В соответствующих контрольных посевах при 27° наблюдалось обычное развитие грибка.

Действие облучения отражается не только на степени роста и характере развития, но также и на строении грибка. Культуры, облученные 5—15 мин., богаты оидиями различной формы — цилиндрической, овальной, бобовидной; хламидоспоры овальные и веретеновидные; пряжек довольно много; гифы тонкие. В контрольных культурах преобладают цилиндрические оидии и шаровидные хламидоспоры. В культурах, облученных 45 мин., гифы неравномерны, оидии почти единичные, а в облученных два часа — местами мертвый мицелий.

При облучении потоком инфракрасной радиации мощностью в 1.5 г-кал, начиная с 5-минутного облучения, развитие грибка уже задерживается; с увеличением экспозиции задержка в росте возрастает, и после 45-минутного облучения можно наблюдать лишь следы роста. В облученных 5—15-минутных культурах задержка в росте постепенно становится менее заметной и спустя месяц выравнивается с контрольными культурами; наоборот, в культурах, облученных

30 и 45 мин., развитие слабое даже месяц спустя, а у облученных 75 мин. оно отсутствует совершенно.

В культурах после 5- и 15-минутного облучения обнаружены пряжки, довольно большое количество оидий, преимущественно овальных, реже цилиндрических и изредка шаровидных; мицелий различной толщины. После 45-минутного облучения в 2-месячной культуре гифы довольно толстые, оидии овальные и цилиндрические, а у 12-дневной культуры оидии различной формы — мелкие или шаровидные. В контроле гифы с пряжками, оидии одиночные, цилиндрические и овальные.

В пределах угнетающего действия инфракрасных лучей 3-месячные и 12-дневные культуры оказались менее устойчивыми, чем 2-месячные, что указывает на значение возраста культуры, подвергаемой облучению.

После 5-минутного облучения при потоке инфракрасной радиации в 1.8—3.0 г-кал, так же как после 2-минутного облучения при мощности потока инфракрасных лучей в 5.0 г-кал, грибок не развивается.

2. Действие конвекционного тепла

Условия опытов представлены в табл. 3.

Результаты. Параллельные опыты в условиях действия одного конвекционного тепла показали, что после пребывания *P. vaporaria* 5—30 мин. при 37° (в термостате) 3-месячные культуры развиваются немного лучше по сравнению с культурами при 21—24°; но более длительное (дольше 30 мин.) их пребывание при 37° несколько угнетало последующее развитие культур как молодых, так и 3—4-месячных. После более продолжительного (до 120 мин.) воздействия

Таблица 3

Возраст культуры в днях	На какой среде	Температура в °С	Продолжительность воздействия	Результаты
90 12, 90 2 55, 140 18, 67, 95 30, 60, 115, 150	Флерова-Попова	37	5′ 10′ 15′ 30′ 120′ 240′ 120′ 45′ 90′ 120′ 240′ 5′ 30′ 5′ 30′ 75′	После 5—30 мин. — развитие лучше у 3-месячных культур; дальше 30 мин. — слабое угнетение; после 120 мин. — развитие более слабое (культур разл. возрастов); после 240 мин. — гибель молодых культур, значительное и длительное угнетение у 3-мес. культур
17	Мальц-экстракт агар		120′	
74 48, 148 67, 158	Флерова-Попова	45	5′ 30′ 75′ 30′ 60′ 90′ 120′ 240′	После 30 мин. — слабое развитие; после 60 мин. — отсутствие роста; после 120—240 мин. слабый рост, но только у 5-мес. культуры

конвекционного тепла при 37° ослабление развития культур различных возрастов (2- и 17-дневных и 3-месячной) выражено ясно. В некоторых случаях, однако, после 120-минутного воздействия при этих же условиях задержка роста была лишь временной, и спустя 1 месяц рост выравнивался с контролем. При 4-часовом пребывании погибали только 12-дневные культуры, а 3-месячные развивались, хотя и медленно.

После действия конвекционного тепла при 45° 30-минутный грибок давал слабое развитие воздушного мицелия; после 60- и 90-минутного воздействия рост обнаружен не был. После 120- и 240-минутного воздействия наблюдалось небольшое развитие грибка в пограничном с опилками слое почвы, но только у 5-месячной культуры; у 67-дневной культуры роста не было.

3. Облучение культур при одновременном снижении теплового действия потоком воздуха

Условия опытов представлены в табл. 4.

Результаты. При условии, когда облучение инфракрасными лучами сопровождалось увеличением теплоотдачи облучаемым объектом путем конвекции, и было возможно, поддерживая температуру объекта на том же уровне, увеличить количество падающей на объект лучистой энергии. В этих случаях грибок утрачивал свою жизнеспособность при более коротком действии лучей.

При облучении потоком инфракрасной радиации мощностью в 1.6 г-кал после 5-минутного облучения развитие культуры хорошее, с поверхностным воздушным мицелием; после 30-минутного облучения — слабое развитие воздушного мицелия и частичное развитие грибка в глубину субстрата; после 75-минутного облучения наблюдается только небольшое развитие в местах посева. Но уже после облучения мощностью в 2.6 г-кал развития культур 150-, 115-, 60- и 30-дневных установлено не было, за исключением следов развития в месте посева у 115-дневной культуры после 5-минутного облучения. При соответствующих температурах одно конвекционное тепло окончательно не подавляло развития, и последнее было еще обнаружено после 30-минутного пребывания культур при 45°.

После 5-минутного облучения при мощности инфракрасной радиации в 2.8 г-кал в 65-дневной культуре, а при мощности в 3.0 г-кал у 74-дневной культуры наступало слабое развитие двух колоний, с слабым воздушным мицелием из довольно толстых гиф с небольшими вздутиями, почти без оидий, и небольшим количеством пряжек. Во всех остальных культурах развития не было.

При 45° и выше уже после 5 минутного облучения развитие не наблюдалось.

Таблица 4

Возраст культуры	На какой среде	Температура в °C	Колич. падающей энергии в $\frac{\text{г-кал}}{\text{см}^2\ \text{мин.}}$	Продолжительность облучения	Результаты
108 53	Флерова-Попова	27	1.6	5′ 30′ 75′	После 5 мин. — развитие хорошее, после 30 мин. — развитие слабое, после 75 мин. — следы развития
150 115 60 30		37	2.6	5′ 30′ 75′	После 5 мин. — следы роста у 115-дневной культуры; у остальных культур развитие не наблюдалось
95 65 18		43	2.8	5′ 30′	После 5 мин.—следы развития только у 65-дневной культуры
74 54		45	3.0	5′ 30′ 75′	Слабый рост в глубине среды только у 74-дневной культуры после 5 мин.; в остальных случаях развития нет
115 30		46	—	5′ 30′ 75′	Развития нет
128 90		59	4.4	5′ 15′ 30′ 60′	
130 93		69	7.0	5′ 15′ 30′ 60′	

4. Облучение через древесные фильтры

Условия опытов представлены в табл. 5.

Результаты. После 45 и 90 мин. облучения через фильтр в 1.8 см наступало неплохое развитие культуры грибка с воздушным мицелием, которое с некоторыми колебаниями, в общем, не отличалось заметно от контроля. После 120 мин. рост слабее, поверхностный мицелий прижат к субстрату и воздушный мицелий развивается лишь местами. В данном случае 130-дневная культура также развивалась лучше, чем 40-дневная, где задержка роста была выражена более заметно.

Облучение при тех же условиях (0.2 г-кал) в пределах 45 мин., 90 мин., 120 мин., 240 мин. под фильтрами 3.6 см показало, что после облучения в пределах до 2 час. развитие было не сильное; существенной разницы с контролем, где развитие также было слабым, не было. После 240-минутного облучения развитие отличалось от контроля. Грибок развивался преимущественно в глубину субстрата, на поверхности же был небольшой и плоский мицелий.

После облучения в продолжение 30 мин. под древесным фильтром в 1.8 см при инфракрасной радиации мощностью в 0.7 г-кал разви-

тие слабое; оно еще более слабое после 90-минутного облучения. Культуры, однако, ничем существенным от выдержанных в условиях действия конвекционного тепла не отличались. При облучении в продолжение 2 час. при мощности радиации в 0.65 г-кал под фильтрами общей толщиной 3.6 см наступало небольшое развитие мицелия; в соответствующем контроле грибок развивался в глубине субстрата; после 4 час. облучения рост ограничивался слабым развитием мицелия в глубине субстрата, не отличаясь от контроля. В данном случае развитие также наступало только в 150-дневных и не было в 60-дневных культурах.

Таблица 5

Возраст культуры	На какой среде	Толщина древесины фильтра	Температура под фильтром в °С	Колич. падающей энергии в г-кал/см² мин.	Продолжительность облучения	Результаты
140 дней 55 »	Флерова-Попова	1.8	37	0.3	60′ 240′	До 90 мин. облучения — развитие почти равно контролю; после 120 мин. рост слабее
132 » 43 »		1.8	37.5	0.25	45′ 90′ 120′	
146 дней 55 »		3.6	37	0.2	45′ 90′ 120′ 240′	До 120 мин. развитие несильное и соответствует контролю; 240 мин. — развитие более угнетенное
140 дней 48 »		1.8	45	0.7	30′ 60′ 90′	Развитие слабое, мало отличается от контроля
153 » 67 »		3.6	45	0.65	120′ 240′	

5. Культивирование грибка в условиях его непрерывного облучения

Условия опытов представлены в табл. 6.

Результаты. Отвивки, произведенные каждые 1—2 дня от культур, находившихся беспрерывно под действием инфракрасных лучей, показали, что 72-часовое облучение задерживает развитие грибка в дальнейшем; после 6—7 суток пребывания под лучами в некоторых случаях грибок совершенно не развивается.

При модификации опытов с увлажнением культур через 1—2 суток задержка в развитии грибка после его отсева не наблюдалась даже после 7,5-суточного облучения; после 25-суточного облучения прорастание отсутствовало.

Таблица 6

Название гриба	Культура	Температура в °C	Продолжительность облучения	Результаты
M. lacrymans	4-дневная на мальц-экстракте с агаром	20—23 23—25 25—27	72 часа (без увлажнения)	Через 72 часа чрезвычайно сильная задержка роста
		20—23	25 суток (увлажнение на 3, 5 и 7 сутки)	Через 7 суток развитие обычное, а через 25 суток значительная задержка прорастания
P. vaporaria		20—23 23—25	72 часа	Через 72 часа задержка роста
		23—25 25—27	25 суток	Через 7 суток развитие обычное Через 25 суток прорастания нет
Coniophora cerebella		25—27	72 часа	Через 72 часа и 25 суток рост обычный
		20—23 23—25 25—27	25 суток	

II. Merulius lacrymans

1. Облучение культур

Условия опытов представлены в табл. 7.

Результаты. Приведенные опыты показали, что облучение при небольших мощностях инфракрасной радиации (0.15—0.35 г-кал) в течение 5—10 мин. несколько стимулирует развитие грибка. Колонии таких культур увеличены в диаметре и имеют воздушный мицелий большей высоты.

Культуры, облученные 15 мин., развиваются приблизительно как контроль, а у облученных 30 мин. рост задержан. Через месяц разница в размере колоний выравнивается за исключением высоты воздушного мицелия, который у культур, облученных 5—10 мин. (стимулированных), сохраняет все еще бо́льшую высоту.

Облучение в пределах 46—70° (до 1.8 г-кал вызывает чрезвычайно сильную задержку развития, а иногда и гибель культур. Молодые культуры в возрасте нескольких дней, как и старые 4—5-месячные культуры, погибают при этом после 5—15-минутного облучения; 2—3-месячные культуры менее чувствительны и, при облучении до 30 мин. при температурах до 70°, не погибают, хотя сильно угнетены; прорастание их наблюдается только при высеве на среду Флерова-Попова, как на более благоприятную, но они не развиваются на мальцэкстракт-агаре.

При микроскопическом исследовании таких культур обнаруживаются значительные морфологические изменения: отдельные клетки мицелия вздуты, гифы в большинстве очень тонкие, отмирающие; пряжки очень редки.

В других случаях гифы имеют нормальное количество пряжек, но плазма многих клеток частично сжата и образует промежутки; у более старых гиф оболочка, кроме того, не резко очерчена и имеются признаки ослизнения; изредка наблюдалось образование отдельных хламидоспор.

Таблица 7

Возраст культур	Температура в °C	Колич. падающей энергии в г-кал / см² мин.	Продолжительность облучения	Среда для проращивания	Результаты
2 суток 4 »	30	0.15	5′ 10′ 15′ 30′ 45′ 60′	Посев до облучения на агар с мальц-экстрактом	После 5—10 мин. более интенсивное развитие после 15 мип. развитие, как в контроле; дольше 30 мин. — задержка
26 суток	31	0.35	15′ 45′ 120′	Флерова-Попова	Задержка развития воздушного мицелия
1 месяц $4^1/_2$ мес.	46	—	5′ 30′ 75′	Агар с мальц-экстрактом	Развития нет
24 дня 2 мес. 10 дн. 3 мес. 18 дн.	59	1.5	5′ 15′ 30′ 45′ 75′	Флерова-Попова	Сильная задержка роста и значительные морфологич. изменения после 30 мин. облучения
2 мес. $5^1/_2$ мес.	69	—	5′ 15′ 30′	Флерова-Попова	В 2-мес. культуре после облучения 5—15 мин. — развитие; после 30 мин.— сильная задержка роста; $5^1/_2$-мес. культура — роста нет
1 месяц	80	3.0	5′ 15′ 30′	Флерова-Попова	
1 »	90	3.0	15′ 30′		Развития нет
1 » $3^3/_4$ мес.	118	5.0	2′ 5′ 15′	Флерова-Попова	Развития нет

2. Действие конвекционного тепла

Условия опытов представлены в табл. 8.

Результаты. Действие конвекционного тепла показало, что непродолжительное действие воздуха при 37° в течение 5—15 мин. в дальнейшем также немного стимулирует развитие *M. lacrymans*. Однако той зависимости стимуляции от продолжительности воздействия, какая наблюдалась при облучении инфракрасными лучами,

здесь не было. Значительная задержка развития наступает после 120-минутного воздействия. Длительное воздействие при 43—45° (в течение 75—240 мин.) убивало только молодые или старые (4—5-месячные) культуры и не убивало 2—3-месячных культур. При этих условиях действие конвекционного тепла уступало действию инфракрасных лучей; при той же температуре слабые культуры убиваются инфракрасными лучами в течение 5—15 мин., сильные — при 75—90-минутном облучении.

При воздействии конвекционного тепла в культурах с задержанным ростом наблюдалось вздутие мицелия, образование более толстых, чем в контроле, гиф и жировое перерождение отдельных клеток мицелия, а также лизис оболочек.

Таблица 8

Возраст	Температура в °С	Продолжительность воздействия	Среда для проращивания	Результаты
2 недели 2 месяца 3 »	37	5′ 10′ 15′ 30′ 120′	Агар с мальц-экстрактом	После 5—15 мин. — развитие несколько интенсивнее; после 15—30 мин. — равно контролю; после 120 мин. — задержка развития
1 месяц $5^{3}/_{4}$ месяца	37	120′ и 240′		Наблюдалось развитие культуры
1 месяц $2^{3}/_{4}$ месяца	45	5′ 30′ 75′	Флерова-Попова	После 5—30 мин. — развитие хорошее; после 75—240 мин. — погибают молодые или старые культуры; 2—3-мес. культуры не погибают
$1^{1}/_{2}$ месяца $2^{3}/_{4}$ месяца	43.0—45 44	30′ 180′ 240′		
1 месяц 3 месяца	43.4—45 46.5—48	120′ 240′		

3. Облучение культур при одновременном снижении теплового действия потоком воздуха

Условия опыта представлены в табл. 9.

Результаты. При этих условиях достаточно было 30-минутного облучения при мощности инфракрасной радиации в 2.6 г-кал для прекращения развития как молодых, так и старых культур этого грибка. При 2.8 г-кал после 5-минутного облучения наблюдается только прорастание; облучение при 3.0 г-кал и выше в течение 5 мин. убивало культуры всех возрастов.

Таблица 9

Возраст	Температура в °C	Колич. падающей энергии в г-кал/см² мин.	Продолжительность облучения	Среда для проращивания	Результаты
1 мес. 3 »	27	1.6	5′ 30′ 75′	Флерова-Попова	Значительная задержка роста в 1-мес. культуре после 75-мин. облучения; у остальных развитие немного слабее контроля
1 мес. 27 дней 1 мес. 5 дн. 5 мес. $2^2/_3$ мес.	37	2.6	5′ 30′ 83′		Развитие только после 5-мин. облучения у всех культур
1 мес. 27 дней $2^3/_4$ мес. 5 мес.	42 и 45	3.0	5′ 30′ 75′		После 5 мин. при 42° значительная задержка прорастания у всех культур; после 30 мин. развития нет. При 45° после 5 мин. — гибель
1 мес. $1^2/_3$ мес. $2^1/_2$ » 3 мес. 10 дн.	55 и 60	4.4	5′ 15′ 30′ 60′		Развития нет
$1^3/_4$ мес. $2^1/_2$ мес.	70	7.0	5′ 15′ 30′ 60′		
1 мес. 5 дн. 1 мес. 27 дней 4 мес. 5 »	43	—	5′ и 30′		После 5 мин. проросли все культуры, но хуже всех 5-мес. культура; после 30 мин. — роста нет

4. Облучение через древесные фильтры

Условия опытов представлены в табл. 10.

Результаты. Проведенные опыты показали, что культуры, облучавшиеся 2 часа через древесные фильтры 1.8—3.6 см толщины при мощности радиации в 0.2—0.7 г-кал, в дальнейшем развитии заметной разницы против необлученных не обнаруживали. Облучение в продолжение 3 часов при 37° не убивает, даже не угнетает заметно роста *M. lacrymans*.

Четырехчасовое облучение при 0.2 г-кал и 0.65 при толщине древесного фильтра до 3.6 см действует сильнее 4-часового нагревания при тех же температурах. Однако эти различия не велики и колеблются от незначительных изменений условий опыта.

Морфологические изменения *M. lacrymans* в этом случае не велики: гифы более толсты и кристаллов больше, чем в контроле. При

сильном угнетении роста наблюдалось усиление разрушения грибком древесины, проявлявшееся в покраснении опилок и более сильном намокании их, чем в контроле.

Таблица 10

Возраст	Температура в °C	Колич. падающей энергии в $\frac{\text{г-кал}}{\text{см}^2\ \text{мин.}}$	Продолжительность облучения	Толщина фильтра в см	Среда для проращивания	Результаты
1 месяц $2^{1}/_{2}$ месяца 3 месяца $5^{1}/_{2}$ месяцев	36.5—38, 37	0.11—0.14	60′ 120′ 240′	1.8	Флерова-Попова	До 180-мин. облучения развитие не отличается от соответствующего контроля. После 240 мин. — задержка роста, а в $5^{1}/_{2}$-месячной культуре — отсутствие роста
4 сут.	32—41.5	—	45′	1.8	Агар с мальц-экстрактом; посев до облучения	
2 недели 1 месяц 3 месяца	42.5—43 44.25—44	0.4	60′ 120′ 180′ 240′	1.8	Флерова-Попова	
$1^{1}/_{2}$ месяца 3 месяца	35, 37	0.15	120′ 240′	3.6	Флерова-Попова	Развитие мало отличается от соответствующего контроля
3 месяца	37—43	—	240′	3.6	Флерова-Попова	Задержка развития
26 дней 3 месяца	39.5—43 44—47	—	120′ 240′ 60′ 120′	3.6	Флерова-Попова	После 120-мин. облучения разницы в развитии не наблюдалось в обоих опытах. После 240 мин.—значительная задержка роста при усиленном намокании опилок

5. Культивирование грибков в условиях непрерывного их облучения

Условия опытов представлены в табл. 6.

Результаты. *M. lacrymans*, отвитый на свежую среду после 72-часового облучения, отличался задержкой роста, как и культура *P. vaporaria*. Более устойчивой оказалась *Coniophora cerebella*, на которой 25-суточное облучение при этих условиях заметно не отразилось.

Увлажнение культур (0.5 см³ воды на пробирку) через 1—2 суток смягчало действие инфракрасных лучей. При этих условиях взятые нами грибки оставались жизнеспособными до 8 суток. После 8 суток орошение было прекращено, и при высеве на 25-е сутки от начала

опыта *M. lacrymans* (облученный при 20—23° С) обнаружена значительная задержка прорастания.

6. Облучение спор

Споры были взяты из плодовых тел *M. lacrymans*, любезно нам предоставленных Микологической лабораторией Центрального исследовательского института промышленного строительства. Облучение спор проводилось при облучении потоком инфракрасной радиации мощностью в 0.1—0.25 г-кал в продолжение 5—30 мин. при следующих условиях:

а) в открытых чашках Петри;

б) в висячей капле воды;

в) на среде Флерова-Попова (в чашках Петри и в пробирках), причем посев спор производился в одних случаях за сутки до облучения, в других — непосредственно перед облучением.

Во всех случаях прорастание спор после облучения не наблюдалось, так же как и в контроле. Только в опытах, где облучению спор предшествовало воздействие 0.1% раствора лимонной кислоты[1] 2—4 часа и облучение происходило 5—15 мин. при 30—31° в висячей капле с раствором лимонной кислоты, споры прорастали в несколько большем количестве, чем в контроле. При облучении в течение 30 мин. количество проросших спор равнялось контролю. После более длительного облучения прорастание спор не наступало. Контролем в этих опытах служили споры в висячей капле раствора 0.1% лимонной кислоты при комнатной температуре.

Выводы

1. Инфракрасные лучи при малом воздействии на культуры *Poria vaporaria* и *Merulius lacrymans* несколько стимулируют их развитие.

При более значительном воздействии наступает угнетение и даже гибель грибков.

2. Стимуляция культур проявляется в более быстром и более пышном ее развитии и сопровождается некоторыми морфологическими изменениями грибков.

3. Угнетение, в зависимости от его степени, проявляется различно: задержка развития, ослабление развития воздушного мицелия или плоский, прижатый к поверхности субстрата рост и, наконец, некоторые морфологические изменения грибка.

4. Сравнение данных облучения инфракрасными лучами культур грибков с действием на них одного конвекционного тепла и облучением через древесные фильтры показывает, что эффект инфра-

[1] Прибавление органических кислот в среду, по данным Миллера, Фалька, Макринова (5) и др., благоприятствует прорастанию спор *M. lacrymans*.

красных лучей на грибки должен быть объяснен не только их тепловым, но и электромагнитным действием.

5. Усиление развития грибков наступало после облучения их потоком инфракрасной радиации мощностью в 0.25 г-кал в течение 5—15 мин. Более длительное облучение — 1 час при этой же мощности потока энергии — вызывало угнетение развития. При более высокой мощности потока, т. е. при 1.5 г-кал, для угнетения достаточно 5 мин. облучения. Для гибели наиболее устойчивых культур грибков достаточно облучения 5 мин. при мощности потока в 1.8 г-кал для *Poria vaporaria*, 5 мин. при 3.0 г-кал для *Merulius lacrymans*.

6. При облучении культур грибков через слой древесины (1.8—3.6 см) специфическое действие инфракрасных лучей значительно ослабевает и остается преимущественно тепловым.

7. По отношению к действию инфракрасных лучей существенного различия между культурами *Poria vaporaria* и *Merulius lacrymans* установлено не было, но все же *Poria vaporaria* немного чувствительнее *Merulius lacrymans*.

Микробиологический институт.
Академия Наук СССР.
Москва.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ванин С. И., Домовые грибы, их биология, диагностика и меры борьбы, 1931.
2. Ванин С. И., Методы исследования грибных болезней леса и повреждений древесины, 1934.
3. Илькевич К. Я., Грибы — разрушители деревянных строений, т. 1, Москва, 1912.
4. Левитская М. А., Инфракрасные лучи. Изд. Академии Наук СССР, 1935.
5. Макринов И. А., Домовой гриб (Merulius lacrymans), его распознавание и меры борьбы, 1920.
6. Флеров Б. К., Домовые грибы и меры борьбы с ними, 1935.
7. Шефер К. и Матосси Ф., Инфракрасные спектры, ОНТИ, 1935.
8. Ячевский А. А., Основы микологии, ОГИЗ, 1933, стр. 541.
9. Fuller H., The injuries effects of ultra-violet and infra-red radiation on plants. Ann. Miss. Botan. Gard., **19**, 1932.
10. Geissler Th., Zur Frage über d. Wirkung d. Lichtes auf Bakterien. Centralbl. f. Bakt. etc., **11**, 1892.
11. Phisalix Mme et Pasteur F., Les rayons infrarouges ne modifient pas la toxicité globale du venin de la vipère aspic, mais en diminuent légèrement l'action vaccinante. Centralbl. f. Bakt. etc. I, Ref. 107, 1932.
12. Wiesner R., Die Wirkung d. Sonnenlichtes auf pathogene Bakterien. Arch. f. Hygiene, **61**, 1907.

G. BURGWITZ und E. NAZAROVA. **ÜBER DIE WIRKUNG DER INFRAROTEN STRAHLEN AUF HOLZZERSTÖRENDE PILZE**

ZUSAMMENFASSUNG

Im Gegenteil zu den zahlreichen Untersuchungen über die biologische Wirkung der kurzwelligen Strahlen ist diejenige der infraroten Strahlen viel weniger bekannt und wird meistenteils auf die Wärmewirkung zurückgeführt.

Geissler (10) und später Wiesner (12) waren die ersten, die auf die bakterizide Wirkung der infraroten Strahlen hingewiesen hatten.

Was Pilze anbetrifft, so sind darüber vor kurzem nur Angaben von Jaczevsky (8) erschienen; kein merkbarer Einfluss der infraroten Strahlen auf Pilze ist von ihm festgestellt worden.

Unsere Aufgabe war die Wirkung der infraroten Strahlen auf Reinkulturen *Poria vaporaria* und *Merulius lacrymans* zu untersuchen um die erhaltenen Ergebnisse, wenn möglich, weiterhin als Schutzmassregeln gegen holzzerstörende Pilze anzuwenden. Als Generator diente uns in unseren Versuchen ein elektrischer Ofen-Reflektor mit Nichromdraht («Elektrik»-Werke) mit einem Wellenspektrum von 1—10 μ, wobei das Energiemaximum auf die Wellenlänge von 3 μ fiel (Abb. 1). Die Menge der auf das bestrahlende Objekt fallenden Energie wurde mittels eines Thermometers und Aktinometers (System von Kalitin) festgestellt (Tab. I).

Die Pilzkulturen wurden auf sterilem Nährboden von Flerov-Popov (Gartenerde mit Sägespänen, Feuchtigkeit 60%) gezüchtet. 0.5—2.0 gr solcher Kultur von verschiedenem Alter (2 bis 150 Tage) wurde in sterile Petrischalen auf angefeuchtete Scheiben von Filtrierpapier aufgebracht und alsdann bestrahlt. Nach der Bestrahlung wurden die Pilze von neuem auf Flerov-Popov's Nährboden als den günstigsten ausgesät und bei 20—23° C während 1. Mon. gezüchtet.

Es waren folgende Versuchsreihen durchgeführt:

1) Direkte Bestrahlung der Kulturen;

2) Die Bestrahlung wurde von einer Ventilisation (Elektroventilator) begleitet. Damit wurde die Wärmewirkung der Strahlen herabgesetzt (durch Konvektion), was ein Annähern des Ofens zum bestrahlenden Objekt ermöglichte, d. h. die Menge der fallenden Energie vergrösserte, ohne dabei die Temperatur des Objekts zu erhöhen.

3) Ausschliessliche Wirkung der Konvektionswärme bei denselben Temperaturen und auf dieselbe Dauer (im Termostat).

4) Kultivieren der Pilze auf Malzextraktagar (in Reagenzgläsern) bei ununterbrochener Bestrahlung während 25 Tagen bei 20—23°, 23—25°, 25—27°.

5) Bestrahlung der Pilzkulturen durch Holzfilter von 1.8—3.6 cm Dicke.

Die Zusammenfassung der Ergebnisse zeigt, dass

1. Infrarote Strahlen bei geringer Wirkung auf die Entwicklung *Poria vaporaria* und *Merulius lacrymans* einen stimulierenden Effekt ausüben; grössere Wirkung führt zur Depression, sogar zum Tod dieser Pilze.

2. Die stimulierende Wirkung äussert sich in schnellerer und üppigerer Entwicklung und einigen morphologischen Veränderungen der untersuchten Pilze.

3. Die Depression äussert sich verschieden; die Entwicklung der Pilzkulturen ist gehemmt, das Luftmycel entwickelt sich schwächer oder ist flacher und an das Nährsubstrat gedrängt und endlich durch morphologische Veränderungen.

4. Ein Vergleich der Wirkung der infraroten Strahlen bei direkter Bestrahlung der Pilzkulturen, mit Bestrahlung durch Holzfilter, sowie mit der Wirkung der Konvektionswärme allein zeigt, dass infrarote Strahlen auf die untersuchten Pilze nicht nur einen Wärmeeffekt, sondern auch eine elektromagnetische Wirkung ausüben.

5. Die Entwicklung der untersuchten Pilze wird beschleunigt durch eine Bestrahlung von 5—15 Min. bei 30° (0.25 gr. cal/cm² min). Längere Bestrahlung (1 Stunde) bei derselben Temperatur (30°) führt zur Depression; bei 59° (1.5 gr. cal/cm² min) genügt eine Bestrahlung von 5 Min. um eine Depression hervorzurufen. Von den widerstandsfähigsten unserer Kulturen geht *Poria vaporaria* nach einer Bestrahlung von 5 Min. bei 69° (1.8 gr. cal/cm² min) und *Merulius lacrymans* von 5 Min. bei 80° (3.0 gr. cal/cm² min) zu Grunde.

6. Beim Bestrahlen durch Holzfilter (1.8—3.6 cm) wird die spezifische Wirkung der infraroten Strahlen stark geschwächt und bleibt hauptsächlich als eine Wärmewirkung.

7. Gegen infraroten Strahlen verhalten sich *Poria vaporaria* und *Merulius lacrymans* ohne stark merkbarer Differenz, jedoch ist *Poria vaporaria* empfindlicher als *Merulius lacrymans*.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADEMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

Е. НАЗАРОВА

БОЛЕЗНЬ СОСЕН, ВЫЗЫВАЕМАЯ *Sclerophoma pithyophila* v H.

(Представлено академиком **Г. А. Надсоном***)*

Под Москвой нередко встречается заболевание сосен, выражающееся в усыхании вершинок и в образовании кисточек и небольших метел на концах побегов.

Исследование пораженных побегов из целого ряда местностей показало наличие бурого членистого мицелия в коре, древесине и сердцевине больных сосен и пикнид *Sclerophoma pithyophila* v. H. на хвоях и коре больных сосен. Из опытов выяснилось, что бурый членистый мицелий из пораженных органов сосны принадлежит к тому же грибку.

Искусственное заражение сосен чистыми культурами данного грибка показало, что он ведет себя на сосне, как раневой паразит. Искусственным заражением удалось получить усыхание вершинок.

В чистых культурах пикниды грибка очень вариабильны, приближаясь то к типу *Phoma*, то к типу *Sclerophoma*.

I. Введение

Отмирание вершинок и ведьмины метлы у сосен давно известны. Отмирание вершинок обычно приписывают неблагоприятным почвенным условиям или отравлению сосен дымом и газами.

Ведьмины метлы, согласно Клебану (Klebahn) и Кюстеру (Küster), могут возникать вследствие объедания почек дичью, повреждения насекомыми, внедрения паразитов, а также вследствие мутационного возникновения Hexenbesenpflanzen[1].

Сосны в этом отношении также не составляют исключения: *Peridermium harknesii* и *P. cerebroides* давно известны в качестве возбудителей ведьминых метел на сосне; но в ряде случаев описаны ведьмины метлы непаразитарного происхождения.

Весной 1924 г. в лесу под Москвой нам пришлось наблюдать довольно большой очаг (1×0.5 км^2) больных сосен. Заболевание выражалось двояко: усыханием вершинок и боковых ветвей и образованием небольших метелок на концах побегов. Ветвь под такой метелкой совершенно лишена хвои и несет многочисленные следы резинозиса. На самой метле, наряду с нормальными, встречались еще особенно толстые и длинные хвои. Заболеванием были охвачены

[1] Растения с ведьмиными метлами.

как молодые (10—12-летние), так и старые (60—70-летние) сосны; как сосны, росшие в густом насаждении, так и одиноко стоявшие деревья. Связи с грунтовыми водами также не удалось проследить: болели сосны, росшие как в слегка заболоченных низинках, так и на песчаных буграх.

Одно только явление было общим для всех этих сосен: на отмершей и отмирающей хвое и на коре больных сосен были обнаружены пикниды грибка из группы *Sphaeropsidales*, сем. *Sclerophomaceae: Sclerophoma pithyophila* v. H.

В течение 3 лет за этим участком велись регулярные наблюдения. Таким образом удалось выяснить распространение данного заболевания в окружающих лесах, а также наблюдать выздоровление, рецидивы и начало заболевания.

Начало заболевания выражалось в том, что все побеги ветви начинали расти одинаково сильно. Заболевшие ветви, по большей части, и в следующие годы давали такой же уродливый рост. Выздоровление наблюдалось редко. В таком случае один из побегов обгонял остальные, и, в дальнейшем, ветвь продолжала расти нормально. Но иногда такая выздоровевшая ветвь заболевала вновь.

Данное заболевание показалось нам настолько интересным, что оно было выбрано в качестве темы дипломной работы, а затем мы продолжали работать над ним и по окончании вуза.

II. Исследование анатомии больных сосен

Хотя ведьмины метлы и тому подобные образования давно известны, патологическая анатомия их не изучена, а потому необходимо было приступить к исследованию анатомии больных сосен. Исследование опухоли в лупу обнаружило следующие отклонения от нормального строения древесины:

1) темные лучистые трещины, обычно расширяющиеся к центру и суживающиеся к периферии; они залиты темной, отвердевшей смолой;

2) на мацерированном (смесью Шульце) материале заметны более плотные яйцевидные клубочки, не встречающиеся в нормальной древесине.

Микроскопическое исследование опухоли показало:

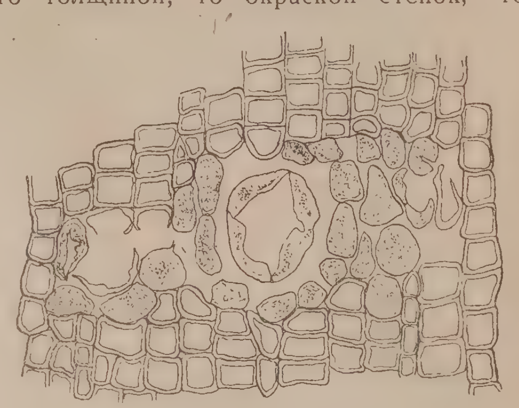
1. Присутствие каллюса по краям внутренних трещин; иногда он развит очень слабо, иногда же представлен 1—2 десятками клеточных рядов; в таком случае на краю трещин он одет пробкой. В случае образования большой полости внутри древесины прилегающие клетки врастают в эту полость, давая ветвящиеся нити, подобно тому, как это описано Фехтингом в работе о трансплантациях.

2. Смолотечение. Микроскопически процесс протекает так, как описывает его Кюстер. Даже в здоровой (по виду) части больной

ветки два соседних хода часто отделены друг от друга только 1—2 рядами паренхимных клеток, а иногда лежат совсем рядом (фиг. 1). Каждый смоляной ход окружен зоной живых паренхимных клеток. Эти клетки позднее сами постепенно обращаются в бурую бесформенную массу смолы.

По соседству со смоляными ходами часто встречаются особые ненормальные трахеиды. Они напоминают то, что Кюстер описывает, как неполное одревеснение вторичной древесины. От нормальных трахеид они отличаются то толщиной, то окраской стенок, то округлой формой и более рыхлым соединением клеток.

Испытание на лигнин с флороглюцином + HCl показывает, что даже нормально построенные трахеиды очень часто не дают этой реакции. Иногда реакцию дают только отдельные, очень небольшие участки древесины (больные ветви отличаются большой гибкостью и малой ломкостью).



Фиг. 1. Резиновис

3. В древесине, богатой смоляными ходами, наблюдается гипертрофия клеток сердцевинных лучей. Величина таких клеток превышает размеры нормальных в несколько раз. Они приобретают неправильную боченкообразную форму. Ядра их значительно крупнее нормальных (фиг. 2).

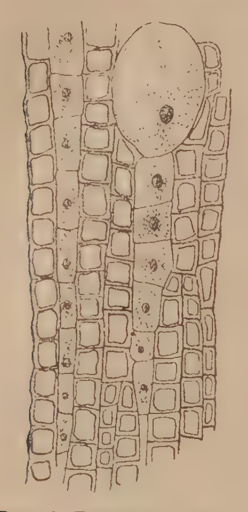
Сердцевинные лучи претерпевают и другое изменение: они буреют и разрушаются, заменяясь смолой.

В той части древесины, где наблюдается ненормальное прохождение трахеид, сердцевинные лучи претерпевают совсем иное патологическое изменение: по большей части они необычайно малы, имея всего (в тангентальном сечении) 1—3 клетки. Это явление, очевидно, объясняется по Неефу: скользящие, изгибающиеся трахеиды, пролезая между клетками сердцевинного луча, раздробили широкие лучи на мелкие части (фиг. 3).

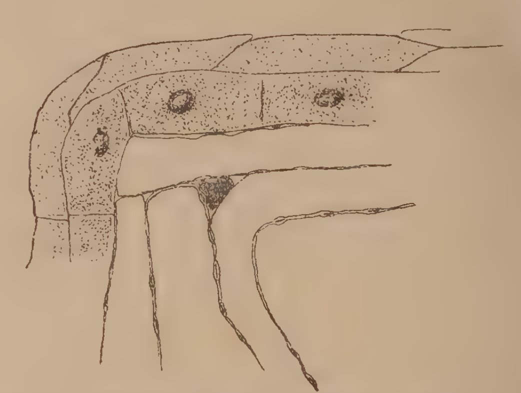
4. Увеличение паренхимы. В зонах ненормального наклона трахеид довольно часто встречаются небольшие местные очаги разросшейся паренхимы. Позднее такая паренхима отмирает, и на ее месте образуются маленькие пустоты (фиг. 1).

5. Одной из самых характерных особенностей такой древесины является изменение наклона трахеид. Явление протекает

чрезвычайно сходно с тем, как это описывает Нееф для пня *Abies alba* или Фехтинг для срастания перевернутого кольца коры. Трахеиды



Фиг. 2. Гипертрофия клеток сердцевинного луча



Фиг. 3. Наклон камбия и трахеид. Поперечный срез

наклоняются, ложатся, изгибаются в дугу, свертываются в кольцо. В результате всего этого при срезе не известно, в какой плоскости будут ориентированы трахеиды: поперечный срез дает продольное сечение, и наоборот. Иногда же на всех срезах трахеиды проходят косо (фиг. 3).



Фиг. 4. Средина вздутия ведьминой метлы. Мицелий *Sclerophoma pithyophila* v. H. в трахеях патологической древесины сосны

6. Мацерированный материал дает разнообразные формы ненормальных трахеид: изогнутые, S-образные, ветвящиеся, с трещинами в стенках и т. п.

Иногда встречаются элементы, совсем не свойственные сосне: прозенхимные клетки, лишенные пор, и трахеи во вторичной древесине. На нахождение трахей во вторичной древесине обратила наше внимание фитопатолог-художница А. А. Орлова (фиг. 4).

7. Изучение окаймленных пор показало, что трахеиды не только изгибаются, но и скручиваются: в нормальной древесине окаймленные поры встречаются на радиальных стенках, здесь же и на тангентальных стенках и даже рядом могут встречаться поры en face и в профиль. Изменяется и форма окаймленных пор: из круглой она переходит в овальную и даже в четырехугольную.

8. Наблюдается образование клубочков (Knäueln). В противоположность мнению Кюстера, они встречаются одинаково часто на всех сечениях ствола. Исследование древесины с лупой, а также микроскопирование трех взаимно перпендикулярных плоскостей (в местах образования клубочков) показало, что клубочки представляют собою тела, т. е. обладают тремя измерениями. Чаще всего они имеют форму эллипсоидов. Изгибающиеся трахеиды устремляются со всех сторон внутрь клубка, переплетаются между собой, затем выходят наружу.

9. Наблюдается скользящий рост камбиальных клеток. Об этом говорит нарушение камбиальных рядов, которое Нееф считает следствием выталкивания камбиальных клеток.

10. Часто наблюдается изменение наклона и изгибание самих камбиальных клеток (фиг. 3). Нееф считает это исключительным явлением: он думает, что, обычно, изменение наклона трахеид наблюдается после их отложения.

11. Наблюдается чрезмерное отложение кристаллов не только в коре, но и в сердцевине, а при искусственном заражении молодых веток и в древесине (по срединной пластинке).

12. Заключительное звено разрушения древесины встречается крайне редко. Оно выражается в том, что вся древесина как-то блекнет; каждая клетка ее растрескивается в сероватые клочки. Сердцевинные лучи и каллюс тоже бледнеют и разрушаются.

В нормальной, по виду, ветке выше и ниже опухоли также наблюдался резинозис и изредка встречались клубочки.

На основании проведенных исследований древесину наших метел следует рассматривать как раневую древесину (Wundholz)[1]. Но это раневая древесина особого типа: здесь нет единого раневого центра, вокруг которого ориентировались бы все остальные элементы раневой древесины. Здесь нет первичной и вторичной раневой древесины, а есть только два типа древесины:

а) зона с нормально ориентированными трахеидами; в этой зоне излишняя против нормы паренхима, всегда связанная со смоляными ходами, обычно кончает расплыванием в смоляном потоке. В этой же зоне встречается гипертрофия клеток сердцевинных лучей;

б) зона кручения трахеид. Резинозиса здесь нет. Клетки сердцевинных лучей нормальны или почти нормальны. Сердцевинных лучей очень много, но они очень малы. Излишняя против нормы паренхима содержится только местами в разрастающихся сердцевинных

[1] Фишер и Гэйманн на стр. 337 своей монографии также приходят к выводу, что реакция листьев на внедрение грибов не есть какая-то специфическая реакция, а есть травматическая реакция на раневое раздражение.

лучах. Позднее она отмирает и разрушается, но смолой не заменяется: обычно на этом месте остается маленькая, ничем не заполненная полость.

О том, что это раневая древесина особого типа, говорит не только отсутствие раневого центра, но и возникновение каллюса не на внешней поверхности, а по краям внутренних трещин. Каллюс здесь не только не является центром, вокруг которого ориентируются все ткани, но, в большинстве случаев, он остается вне всякой связи с остальными патологическими явлениями. Он не граничит ни с начальными стадиями резинозиса, ни с крутящимися трахеидами. Вообще, здесь три главных патологических явления ничем не связаны друг с другом.

Каллюс возникает отдельно, на краю трещины, независимо от того, какая древесина (нормальная или патологическая) будет соприкасаться с ним.

Резинозис захватывает более старые части древесины с нормальным наклоном трахеид.

Кручение обычно наблюдается в более молодых частях древесины.

Только наклон камбия, наклон трахеид и наклон элементов коры связаны друг с другом (фиг. 3).

Что же вызвало образование метел и всю наблюдаемую нами патологию?

Предположить возникновение метел вследствие мутационного скачка невозможно уже потому, что нельзя допустить, чтобы все сосны в возрасте от 10 до 70 лет на пространстве 1×0.5 км² одновременно испытали одинаковый мутационный скачок.

Кроме того, и некоторые другие наблюдения также говорят за иное происхождение метел.

Повреждение насекомыми не могло вызвать этого явления, так как следы от уколов насекомых встречались только изредка на некоторых метлах.

Объедание молодых веток и почек дичью? Внешний осмотр метел в некоторых случаях давал одну-две обломанных или засохших ветки, в других случаях все ветки оказывались налицо. Осмотр вторичных метел никогда не обнаруживал отмирания почек или сучьев: все побеги оставались живыми, только боковые побеги догоняли в росте главный побег, и он переставал выделяться среди остальных. Есть и еще одно обстоятельство, которое говорит против объедания дичью: заболевали такие тонкие веточки строевого леса, которые дичь могла объедать разве только на лету.

Остается только одно предположение: метлы вызваны внедрением паразитного грибка. За паразитарную природу метел говорит следующее: а) внутри патологически измененной древесины постоянно

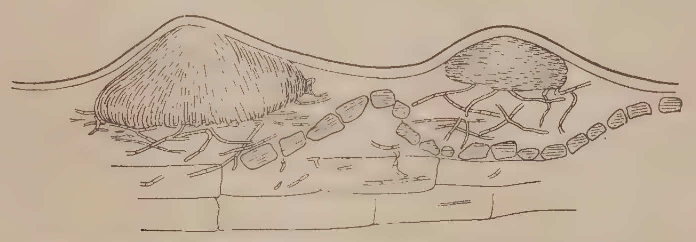
встречается мицелий какого-то грибка (фиг. 4 и 8); б) при рецидиве заболевания встречается мицелий в более молодых слоях древесины и коры (и в камбии). При выздоровлении ветки мицелий (и патологические изменения тканей) наблюдались в более старых частях тканей; в) наконец, в раневой древесине нет единого центра, а имеется целый ряд совершенно независимых друг от друга патологических изменений древесины и коры. Это также говорит за грибную природу метел, потому что отсутствие единого центра, по нашему мнению, объясняется множественным ранением, как следствием внедрения и прохождения мицелия внутри тканей сосны.

Это предположение казалось нам и потому еще вероятным, что пикниды грибка *Sclerophoma pithyophila* v. H. постоянно наблюдались на отмерших и отмирающих хвоях и на коре больных сосен.

Проверка этого предположения составила следующий раздел нашей работы.

III. Исследования по выяснению возбудителя данного заболевания

Микроскопическое исследование больных сосен всегда обнаруживало присутствие мицелия. Он встречается не только в опухоли, но и на несколько сантиметров ниже ее, а вверх мицелий поднимается до самого конца главного побега.



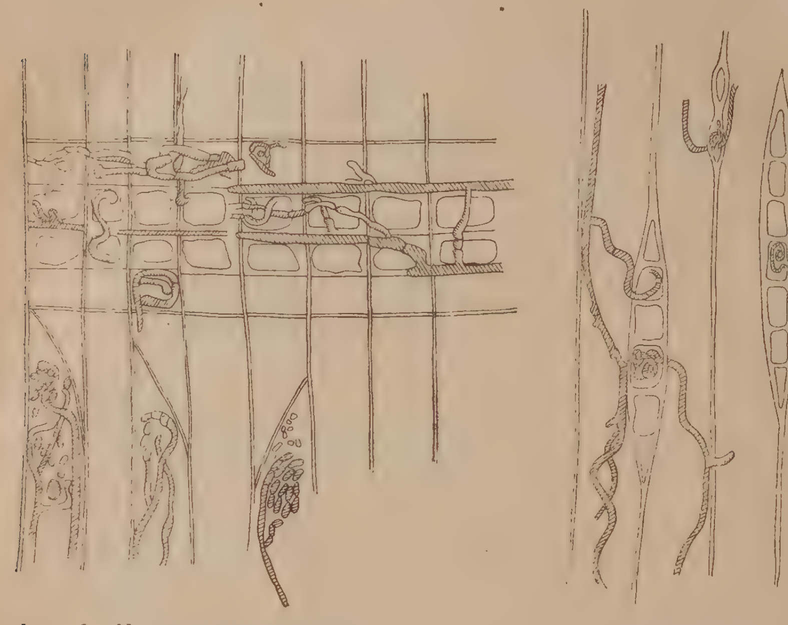
Фиг. 5. Пикниды и мицелии *Sclerophoma pithyophila* в коре сосны

Мицелий встречается членистый, то бурый, легко распадающийся на оидии, то бесцветный. В коре мицелий обильный, в камбиальной зоне его всегда не много; в древесине то мало, то довольно много. В коре удалось проследить связь мицелия, на котором возникла пикнида *Sclerophoma pithyophila*, с тем, что проходил во вторичной (еще живой) коре (фиг. 5).

В коре мицелий и интра- и экстрацеллюлярный, и бесцветный и бурый, легко дает оидии, заполняющие клетки хозяина.

В камбии встречается только экстрацеллюлярный мицелий. В древесине мицелий, и межклетный и внутриклетный, предпочитает сердцевинные лучи и смоляные ходы, однако проходит и по срединной пластинке между трахеидами и внутри трахеид. Внутри трахеид мицелий бурый, легко распадающийся на оидии.

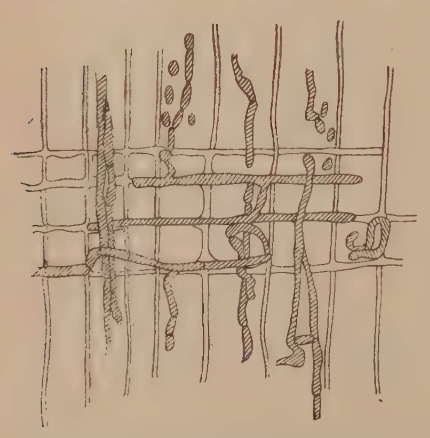
Мицелий проникает в трахеиды как сквозь окаймленные поры, так и прямо, прободая стенку (фиг. 6 и 7). В хвое мицелий прохо-



Фиг. 6. Искусственное заражение сосновой лучинки. Рад. срез

Фиг. 7. Искусственное заражение сосновой лучинки. Танг. срез.

дит во всех направлениях, иногда пролезает даже между склеренхимными волокнами, смещая и раздвигая их, но наиболее часто встречается в смоляных ходах. В хвоях часто наблюдаются субъэпидермальные сплетения, из которых, повидимому, впоследствии развиваются пикниды. Гифы проходят наискось, извиваясь, но могут итти и прямо на протяжении всей трахеиды (фиг. 8).



Фиг. 8. Большая древесина. Мицелий *Sclerophoma pithyophila* в трахеидах и сердцевинных лучах

У основания опавших хвой мицелий встречается не только в самой хвое, но и в материнской ветке, у основания укороченного побега.

В случае выздоровления ветки мицелий (как и патологические изменения тканей) встречается в глубоких слоях древесины. В случае рецидива заболевания мицелий проникает вновь в молодые ткани.

Так, когда у верхушки побега заметно укорачивание и скручивание хвои (рост, как у ели), то наблюдается проникновение мицелия в молодые части и разрушение камбия (из этого следует, что данный habitus растения связан с рецидивом заболевания).

Все эти наблюдения заставляют нас считать грибок причиной описанного заболевания. Наиболее вероятно, что таким грибком является *Sclerophoma pithyophila* v. H., обильно встречающаяся на хвое и коре больных сосен.

Опыты по выяснению роли *Sclerophoma pithyophila* в этом заболевании и по выявлению систематического положения того мицелия, который постоянно встречался во всех тканях больных сосен, начаты с января 1925 г.

Для этого были предприняты встречные исследования этих грибков: с одной стороны, были дважды выделены с хвой чистые культуры *Sclerophoma pithyophila* v. H., с другой — было проведено (с соблюдением асептических условий) выделение чистой культуры грибка из средины опухоли.

Из всех этих выделений были взяты 3 штамма (два получены из пикнид на хвое и один из древесины опухоли).

Эти 3 штамма в течение $1^1/_2$ лет проводились параллельно через целый ряд сред (см. приложение).

Сравнение колоний этих 3 штаммов показало их чрезвычайное сходство: на самых разнообразных средах эти штаммы отличались друг от друга меньше, чем один и тот же штамм на одной и той же среде при разных способах пересева.

Микроскопическое исследование мицелиев этих 3 штаммов на разных средах давало одни и те же формы роста и размножения. Детальное описание мицелия этих штаммов дано в приложении. Здесь же мы отметим только следующие особенности их:

1) на средах малопитательных (например, на кислой среде Бейеринка с агаром) мицелий долгое время оставался бесцветным;

2) посев на щелочный агар с виноградным отваром давал обильное образование оидий. Отсев оидий опять давал оидиальную культуру, и только отсев мицелия из краевой зоны колонии давал обычный для этих штаммов мицелий. Отсев склероциев давал культуры, богатые склероциями, отсев зачатков пикнид давал пикниды;

3) иногда наблюдалось эндогенное (внутри клеток мицелия) образование спор;

4) все 3 штамма дали в культуре пикниды.

Оболочка пикнид толстая, склероциального типа, нет *osteolum*, нет конидиеносцев. Вся полость пикниды выполнена стилоспорами. Стилоспоры одноклетные, бесцветные, яйцевидные, то с 2 каплями масла по концам споры, то без них.

Таково строение пикнид у выделенного из опухоли грибка. Строение пикнид у двух остальных штаммов было совершенно таким же; размеры стилоспор чрезвычайно близки.

Размеры стилоспор I штамма (полученного из пикнид с хвои) колебались в пределе $6-10 \times 2-3\ \mu$.

Размеры стилоспор II штамма (исходный материал: пикниды на хвое сосны) колебались в пределе $6-8 \times 1.75-4.0\ \mu$.

Размеры стилоспор II штамма на стерильном овсе колебались в пределах $5.2-8.4 \times 2.6-4.4\ \mu$.

Размеры стилоспор III штамма (получен из мицелия, пронизывавшего опухоль) на стерильном овсе колебались в пределах $5.4-6.7 \times 2.7-4.0\ \mu$.

Полученные в культуре стилоспоры и пикниды всех трех штаммов так мало отличаются друг от друга и от исходного материала пикнид с хвои, что все три штамма, несомненно, есть культуры *Sclerophoma pithyophila* v. H.

Промеры эти совпадают и с данными Петрака: длина 5—7 μ реже до 8 μ, ширина 2—3 μ, реже до 4 μ. С его размерами наши промеры совпадают довольно точно, особенно хорошо совпадают размеры стилоспор самого важного для нас III штамма (выделен из древесины).

Стилоспоры одноядерны, легко прорастают в первые же сутки в висячей капле как в воде, так и в питательных субстратах. Молодой мицелий быстро делается многоядерным (внутри хозяина мицелий также многоядерный).

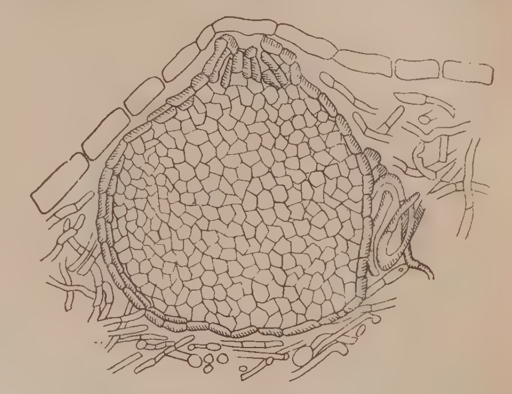
Культура, выделенная из одной клетки мицелия, тоже давала пикниды. Обильнее всего пикниды возникали на тонком слое субстрата у края стеклянной посуды.

Легче всего пикниды получались на стерильных зернах овса и на семенах льна (в коробочках). Но когда культура начинала плодоносить, то повторные пересевы на самые разнообразные твердые среды вновь давали пикниды. Даже на щелочной (по лакмусу) среде пикниды появлялись в изобилии, даже на средах малопитательных (например, на кислой среде Бейеринка с агаром) пикниды все-таки получались, только очень тонкостенные, легко лопающиеся.

Сравнивая строение стенок пикнид на разных питательных средах (на среде Бейеринка с агаром, на овсе, на семенах льна, на черничном киселе, на виноградном агаре, на хвое и т. д.), убеждаешься в чрезвычайной вариабильности оболочки пикнид одного и того же штамма (фиг. 9 и 10).

На одних средах (среда Бейеринка с агаром, овес) оболочка пикниды тонкая, часто однослойная, похожая на оболочку *p. Phoma*. В других случаях: на агаре с черничным отваром, на черничном киселе, на хвоях — стенка пикниды толстая, склероциального типа. свойственная *p. Sclerophoma*.

Такое различие, по нашему мнению, объясняется не только питанием, но и плотностью той оболочки, которую пикнида должна прорвать, чтобы пробиться на воздух.



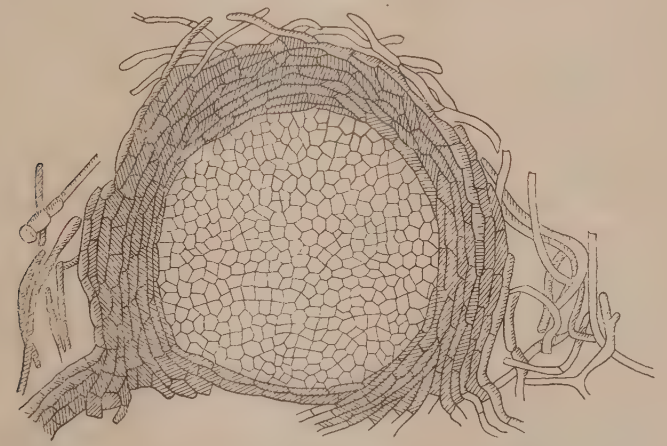
Фиг. 9. Пикнида *Sclerophoma pithyophila* на стерильном овсе

Наблюдалась и еще одна интересная модификация пикнид: споры (оидии) вырастали заключенными в коричневую открытую толстостенную оболочку из стерильных гиф. Такая форма плодоношения возникала, когда мицелий переходил от образования оидий к образованию пикнид. В ней можно видеть переход от плодоношений гр. *Acervulales* к настоящим пикнидиальным формам.

О случаях образования полуоткрытых плодоношений у пикнидиальных форм говорит и Ячевский («Определитель грибов», т. II, стр. 138).

Только на жидких средах, даже на самых питательных, ни разу не наблюдалось образования пикнид.

Слабое образование пикнид наблюдалось и на твердых средах при пересеве в колбу Артари. Объясняется это, вероятно, недостатком кислорода.



Фиг. 10. Молодая пикнида *Sclerophoma pithyophila* с черничного агара

Зачатки пикнид появлялись в трехсуточной культуре, вызревали пикниды в 7—21 сутки. Рассеянный свет благоприятен для образования пикнид.

Всегда на свету пикниды развивались гораздо быстрее, в темноте же часто отмирали (подобные опыты были проведены с разными штаммами, и всегда результат получался один и тот же). Даже яркий солнечный свет не препятствует развитию пикнид.

Ввиду противоречивых мнений фон-Гонеля и ван-Луйка о генезисе стилоспор по этому вопросу, имеющему большое систематическое значение, было предпринято специальное исследование.

Исследуемый материал (зерна льна) с пикнидами двух последних штаммов был залит в парафин и из блоков на микротоме делались срезы толщиною в 12—15 μ. Срезы эти были пополнены срезами естественно зараженных хвой сосны.

История развития пикниды по продольным срезам представляется в следующем виде:

1) среди слабого сплетения бурого членистого мицелия проходит несколько (3—5) коротких рядов бесцветных прозенхимных клеток. Это зачаток будущего ядра пикниды;

2) пикнида вытягивается. Одевающее ее бурое сплетение мицелия становится мощнее. Наружные слои его, более темные, имеют характер паренхимы, внутренние слои вытянуты в продольные ряды и постепенно переходят в бесцветное ядро прозенхимных клеток;

3) бесцветные клетки ядра вздуваются и смещаются по отношению друг к другу. Внутренность пикниды принимает скорее паренхиматический, чем прозенхиматический характер. Однако прежние продольные ряды еще можно проследить (фиг. 9 и 10);

4) оболочки клеток ослизняются, ряды разрываются, и в цепи клеток образуются перерывы;

5) пикнида еще замкнута. В средине — разрыв. По краям сидят цепочки (еще не разъединившиеся) бесцветных яйцевидных стилоспор;

6) пикнида еще замкнута, но полость ее вся выполнена бесцветными яйцевидными спорами, погруженными в слизистое вещество;

7) пикнида трескается неправильной щелью, и споровая масса изливается наружу, окруженная слизью;

8) пикнида опустела, в нее врастают бурые нити мицелия.

Примечание. На поперечных срезах ядро пикниды имеет всегда паренхимный характер.

Таким образом наши наблюдения над историей развития пикнид показали, что мнение фон-Гонеля о генезисе спор — правильно.

После того, как была доказана идентичность выманенного из древесины грибка со *Sclerophoma pithyophila* v. H., необходимо было проверить его патогенность для сосны.

Многочисленные заражения сосен в разных лесах и в разные времена года показали:

1) все три штамма совершенно одинаково способны заражать сосну (фиг. 11 и 8);

2) легко заражаются старые или мертвые части сосны (100% заражение); молодые, быстро растущие части (почки, молодые побеги в период роста) заражаются с трудом;

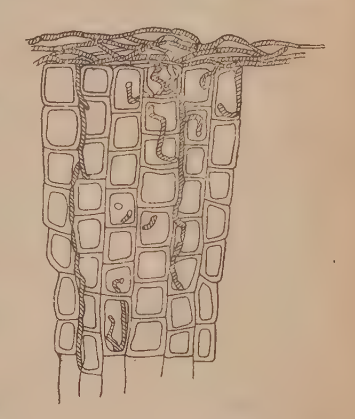
3) в некоторых случаях заражение может происходить и без ранения;

4) в целом ряде случаев в местах заражения образовывались пикниды *Sclerophoma pithyophila* (на раненых, но еще живых хвоях, на коре, на древесине);

5) всегда получались патологические изменения в строении древесины;

6) при заражении в 0.5—1.0 см от точки роста нередко удавалось получить усыхание вершинок. Однако при искусственном заражении штаммами *Sclerophoma pithyophila* нас постигли следующие неудачи:

1. Не удалось получить ведьминых метел. Из работы Meinecke мы узнали позднее, что постигшая нас неудача была обусловлена тем, что опыты снимались через 3—3½ месяца, а для получения ведьминых метел необходима продолжительность опыта в 9—27 месяцев.



Фиг. 11. Искусственное заражение молодой сосенки культурой *Sclerophoma pithyophila* v. H.

2. В 50% всех опытов заражался и контроль бурым членистым мицелием. Так как предпринимался целый ряд предосторожностей (работа велась со стерильным инструментарием, стерилизовались руки и кора сосны 95% спиртом, зараженные ветви изолировались пергаментными пакетиками), и все-таки в 50% контроль заражался, то мы пришли к выводу, что заражение происходит с воли, и что бурый членистый мицелий очень часто имеется в коре здоровых по виду сосен. Работа по анализу древесины убедила нас, что бурый членистый мицелий, действительно, чрезвычайно часто встречается в древесине, идущей на наземные постройки. И не только мицелий, но и пикниды *Phoma sp.* и *Sclerophoma sp.* встречаются на поделочной древесине сосны. Эти грибки вызывают прокрашивание древесины в буроватый цвет.

На основании своих опытов по искусственному заражению и наблюдений над поделочной древесиной мы пришли к выводу, что не только под Москвой, но и в целом ряде других местностей *Sclerophoma pithyophila* (и некоторые другие грибки, например *Phomopsis, Diplodia pinicola* и др.) постоянно встречаются в мертвой части коры и в чешуйках укороченных побегов сосны.

При задержке роста сосны они внедряются в живую часть коры, пробираются к камбию, забираются в древесину ветвей, оттуда путешествуют вверх до точки роста и вниз по стволу. Убивают точку роста, вызывают усыхание вершинок или же своим внедрением вызывают уродливый рост (метлы). В более толстых частях ветвей вызывают резинозис, а пробравшись в ствол, дают еще на корню древесину, пораженную синевой.

Общие выводы

1. Многочисленные опыты, проведенные в разных лесах и в разные времена года, показали, что *Sclerophoma pithyophila* v. H. способен заразить сосну.

2. Искусственное заражение удается не только после ранения, но и без ранения (при условии замедленного роста хозяина).

3. Грибок вызывает усыхание вершинок, резинозис и, иногда метлы.

4. Мицелий гриба пронизывает все ткани растения-хозяина и вызывает ряд патологических изменений в строении древесины (и коры): увеличение количества смоляных ходов, гипертрофию клеток сердцевинных лучей, наклон камбия и трахеид, образование клубочков (Knäueln), каллюса и т. п. Вследствие этого древесина больных сосен есть раневая древесина, но раневая древесина особого типа: со многими центрами ориентировки элементов древесины. Последнее, вероятно, обусловлено многократным ранением (разрушением) внедряющегося мицелия гриба.

5. Грибок должен быть причислен к раневым паразитам; он может заражать сосну и без ранения, но только при условии медленного роста растения-хозяина.

6. Грибок вызывает частичную потерю лигнина и должен быть причислен (по своему поведению в древесине) к группе синевы.

При употреблении леса с сильно пораженных *Sclerophoma pithyophila* v. H. участков надо иметь в виду, что получится древесина не первосортная, но пораженная синевой.

7. Процесс образования стилоспор у *Sclerophoma pithyophila* протекает так, как описал его фон-Гонель.

8. Стенки пикнид чрезвычайно сильно вариируют по толщине в зависимости от питательности и консистенции субстрата, на котором они возникают: образуются то тонкостенные пикниды типа *Phoma*, то толстостенные типа *Sclerophoma*.

9. В чистых культурах споры возникали не только в пикнидах, но и в открытых плодоношениях типа *Acervulales*.

10. Очень часто наблюдается эндогенное (внутри нитей мицелия) возникновение оидий.

В заключение приношу свою глубокую благодарность руководителю работы проф. Л. И. Курсанову за ценные указания и советы, которые я получила, работая над данной темой.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Характеристика мицелия трех основных культур на разных средах

1. Стерильный овес	При достаточной, но не чрезмерной влажности хороший рост и образование пикнид. Пикниды часто тонкостенные.
2. Головки льна	То же, что овес.
3. Черничный кисель	Очень хороший рост мицелия, т. е. мицелий толстый и бурый, по большей части погруженный в субстрат, но есть и небольшое количество воздушного мицелия, зачатки пикнид.
4. Агар с отваром черники	То же, что и черничный кисель, но слабее.
5. Агар с отваром винограда (кислый или нейтр.)	То же, что и черника.
6. Агар с отваром винограда (щелочный)	Сначала оидии, затем хороший рост бурым толстым мицелием, иногда пикниды.
7. Сосновая лучинка	Хороший мицелий. Мало оидий. Нет пикнид.
8. Агар + отвар сосны + глюкоза	Как черника, только почти совсем не дает воздушного мицелия. Рост почти исключительно внутри среды.
9. Агар + пептон + глюкоза	Хуже черники, винограда или отвара сосны. Зачатки пикнид очень редки.
10. Агар + пептон + глюкоза + тростниковый сахар	Как среда № 9.
11. Агар + пептон + глюкоза + лактоза	Почти полное отсутствие роста, только немного оидий.
12. Агар + пептон + отвар черешни	Сначала оидии, затем очень толстый мицелий. Мицелий долго не буреет.
13. Красносмородинное варечье	Полное отсутствие роста.
14. Жидкий отвар черники	Хороший вегетат. рост бурым мицелием, погруженным и поверхностным.
15. Среда Бейеринка кислая, жидкая	Рост тонкой сплошной пленкой, распадающейся на бурые оидии.
16. Вата	Очень слабый рост и размножение в виде бурых оидий. Просуществовали культуры на вате в течение месяца, остались живыми и дали заметную простым глазом колонию.

Общие замечания. 1) При пересеве на худшую среду сначала рост оидиями. 2) При пересеве с плохой среды (вата) на среду средней питательности — роскошный рост. 3) Повторенные пересевы только на очень питательные среды не угнетают роста, при средней питательности среды повторенные пересевы вызывают образование оидий и общее угнетение роста. 4) Культуры обладают внутренней инертностью: пикнидиальные культуры дают пикниды, склероциальные — склероции. Посев оидий дает оидии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Von. Hoehnel, Fragmente z. Mycologie, 1, 1909, p. 1232.
2. Jost L., Über einige Eigentümlichkeiten d. Kambiums d. Bäume (Bot. Ztg. 53 Jahrg. I Abt., 1901, S. I ff.).
3. Klebahn H., Grundzüge d. allgemeine Phytopathologie, Berlin, 1912.
4. Küster E., Die Gallen d. Pflanzen, Leipzig, 1911.
5. Küster E., Pathologische Pflanzenanatomie II Aufl., Jena, 1925.
6. Van Luyk, Annales Mycologici, 1923, p. 133—142.
7. Meinecke E. P., Experiments with red pine rust (Phytopathology, v. 19, IV, 1929).
. eef Fr., Über polares Wachstum d. Pflanzenzellen (Jahrb. f. wiss. Bot., 1922, II, S. 205).
9. Neef Fr., Über Zellumlagerung (Zeitschr. f. Bot., 1914, 6, 465).
10. Petrak, Annales Mycologici, 1925, 182—335.
11. Ross H., Über nichtparasit. Hexenbesen an Robinia pseudacacia L. (Ber. d. Bot. Geselsch., Bd. LI, H. 7, S. 292).
12. Saccardo R., Sylloge Fung., III, p. 101.
13. Schilling, Über d. lokalen Anschwellungen d. Bastfasern (Ber. d. D. Bot. Ges, 1921, 39, 379).
14. Strasburger Ed., Über d. Bau und d. Verrichtungen d. Leitungsbahnen in d. Pflanzen (Jena, 1891).
15. Vöchting H., Über Transplantation am Pflanzenkörper, Tübingen, 1892.
16. Vöchting H., Untersuchungen z. exper. Anatomie u. Pathologie d. Pflanzenkörpers, Bd. 11, 1918.
17. De-Vries Hugo, Über Wundholz. Flora, 59 Jahrg. NN. 1—5.

E. NAZAROVA. DISEASE OF PINE TREES CAUSED BY *SCLEROPHOMA PITHYOPHILA* v. H.

SUMMARY

The dying off of the tops in pine trees and the appearance of «witch brooms» has been known for a long time.

The dying off of tree tops has usually been ascribed to unfavourable conditions of the soil or to the poisoning of pines by smoke and gases.

Witch brooms may be due to the following causes: gnawing of the shoots by birds, injury by insects, penetrating of parasites, and also mutative occurrence of witch broom plants (Hexenbesenpflanzen). But in a number of cases the witch brooms described were not due to parasites.

The anatomical investigation of diseased pines proved that the occurrence of witch brooms could not be explained by a mutational changes. It remains but to suppose the witch brooms as resulting from the penetration of a parasitic fungus. In this case picnidia of the fungus *Sclerophoma pithyophila* v. H. have continually been found on dying or died off needles and on the bark of diseased pines.

When the swelling was examined by microscope it showed the presence of callus, a hypertrophy of the cells of the medullary ray, the enlargement

of the parenchyma, a change in the incline of the tracheids, a changed incline and curvature of the cambium cells themselves. Therefore, the wood of witch brooms must be regarded as wound wood (Wundholz). But it is a wound wood of a special type: there is no single wound wood centre around which all the remaining elements of the wound wood could orientate. There is no primary or secondary wound wood, there are only two types of wood: a) a zone with tracheids of normal orientation and b) a zone of twisted tracheids.

That this wound wood is of a special type is shown not only by the absence of a wound centre, but also by the fact that the callus is not formed on the outer surface, but along the edges of internal fissures. Here the callus is not the centre around which the orientation of all tissues takes place, but in the majority of cases it is deprived of any connection with other pathological phenomena. It is contiguous neither with the initial stages of resinosis, nor with twisting tracheids. In general there are three principal pathological phenomena deprived of any connection with one another. Callus is separately formed on the edge of a fissure, independently of the fact what wood (normal or pathological) comes into contact with the same. The resinosis is found on older parts of the wood with a normal incline of the tracheids. Twisting is usually observed in the younger parts of the wood. Only the incline of the cambium, the incline of the tracheids and the incline of the bark elements are connected with each other. The following facts seem to indicate the parasitic nature of the given witch brooms:

a) the mycelium of some sort of fungus is continually found in the wood that has undergone pathological changes;

b) at the reiteration of the disease, mycelium is found in younger layers of the wood and bark;

c) lastly, there is no single centre in the wound wood, but there is a number of pathological changes of the wood and bark quite independent of each other. This indicates the fungous nature of the witch brooms studien.

Numerous experiments carried out in various forests and at different seasons have shown that the *Sclerophoma pithyophila* v. H. is capable of infesting pine trees. Artificial infection is effective not only after wounding, but also without the latter (in the case of a slow growth of the host). The fungus causes the drying of the tree tops, resinosis and sometimes the appearance of witch brooms. The mycelium of the fungus penetrates all the tissues of the tree and causes a number of pathological changes in the structure of the wood (and bark): increase in the number of resin tracts, hypertrophy of the cells of medullary rays, incline of the cambium and tracheids, formation of knots, of callus, etc. Consequently the wood of diseased pine trees is a wound wood, but a wound wood of a special type: with many orientation centres of the wood. This is, probably,

the result of repeated wounding (destruction) by the penetrating mycelia of the fungus. The fungus must be numbered among the wounding parasites; it can infect pines without any wound, but only on condition of a slow growth of the host. The fungus causes a partial loss of lignine and must be referred to the group of blue disease (by its behaviour with in the wood). When using timber from plots highly infected by the *Sclerophoma pithyophila* v. H. it must be taken into consideration that it will not be first-rate wood, but one affected with blue disease. The process of formation of stylospores in the *Sclerophoma pithyophila* takes place as has been described by von Hoehnel. The walls of the picnidia greatly vary in thickness, owing to the nutritiousness and consistency of the substratum on which they appear: sometimes picnidia of the *Phoma* type with thin walls are formed, and sometimes of the type of *Sclerophoma* with thick walls. In pure cultures spores appeared not only in picnidia, but also in open fruiting bodies of the type of *Acervulales*. Very often an endogenous growth of oidia (inside the threads of mycelia) is observed.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADEMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

Р. Л. ДОЗОРЦЕВА

МОРФОЛОГИЯ ХРОМОСОМ У НАЕЗДНИКА *PTEROMALUS PUPARUM*

(*Представлено академиком* УАН **А. А. Сапегиным**)

В работе приведены данные о числе и морфологии хромосом самца и самки наездника *Pteromalus puparum*. Найдены лучшие стадии для выявления морфологической структуры хромосом (6—8-дневные личинки), а также лучший фиксатор [хром-формол крепкой концентрации (50% формалин + 5% хромовая кислота) состава 5:5]. Установлено, что гаплоидный набор хромосом самца состоит из 5 хромосом, а диплоидный набор хромосом самки состоит из 10 хромосом. Установлено, что все хромосомы *P. puparum* имеют ясно выраженную морфологическую структуру, характеризующуюся присутствием первичных и вторичных перетяжек. Установлена индивидуальность для I, II и V пар хромосом.

Введение

Изучение цитологии *Hymenoptera* начато после многочисленных биологических и экспериментальных исследований партеногенеза. Уже в первых, правда, очень неточных работах было установлено, что овогенез у *Hymenoptera* протекает нормально, в то время как в сперматогенезе наблюдаются необычные явления.

Впервые изучение созревания половых клеток и поведение хромосом в этом процессе было произведено при помощи новейшей техники Петрункевичем (Petrunkewitsch, 1900). У пчелы в метафазе он нашел 18 хромосом — это был первый подсчет хромосом у представителей этого отряда насекомых. Автор установил, что первое полярное тельце отделяется путем эквационного деления, при втором же делении число хромосом редуцируется до 8. Он высказал предположение, что у самцов — гаплоидный набор хромосом, а у самок — диплоидный.

Нахтсгейм (Hachtsheim, 1913) опроверг это объяснение Петрункевича и показал, что хромосомы первого деления уже являются бивалентными, а кажущаяся редукция до 8 объясняется вторичным временным соединением отдельных хромосом попарно.

Мевес (Meves, 1904), исследуя сперматогенез у осы (*vespa germanica*), установил, что число хромосом, равное 16, найденное в спер-

матогенезе, не уменьшилось во время созревания. В результате первого деления созревания происходит отделение цитоплазматической почки. Второе деление созревания происходит эквационно, а в цитоплазме образуется второе «полярное тельце», которое затем распадается. Таким образом автор установил, что у осы (*vespa germanica*) 1-е майотическое деление абортивно, а 2-е эквационно, как это характерно для гаплоидных самцов многих *Hymenoptera*. Дальнейшие цитологические исследования у представителей этого отряда идут по линии изучения сперматогенеза у ос (Doncaster, 1907; Granat, 1913; Mark and Copeland, 1907; Meves, 1908 и другие), причем ни в одной из этих работ не дан ясный и точный подсчет хромосом. Почти во всех работах указывается, что первое деление абортивно и дает начало цитоплазматической почке, а второе эквационно.

Цитология партеногенеза у следующей группы *Hymenoptera* — у *Formicidae* (муравьев) также мало изучена. Henking (1892), Schleip (1908) и Hogben (1920) являются пока единственными авторами, исследовавшими цитологически эту группу. Точное число хромосом у исследованных видов этой группы также не установлено; что же касается сперматогенеза, то большинство авторов установило, что он протекает так же, как и у ос, т. е. первое деление абортивно и ведет к отделению плазматической почки, второе же — эквационно.

Большинство авторов, работавших по цитологии паразитических *Hymenoptera*, исследовали главным образом сперматогенез, что, очевидно, объясняется, с одной стороны, легкостью получения материала для анализа гонад, а с другой стороны, интересом в связи с абортивностью первого деления, отличающего сперматогенез перепончатокрылых от сперматогенеза других животных.

Для подсчета чисел хромосом было исследовано очень немного тканей. Большинство авторов подсчитывало числа хромосом соматических клеток, но эти данные были очень приблизительны.

Донкастер (Doncaster, 1910) исследовал делящиеся клетки в развивающихся тканях куколок. Подсчитать точно число хромосом было очень трудно, ввиду их мелкости. Диплоидные и гаплоидные клетки в общем различимы, но числа в большинстве случаев определены лишь приблизительно.

Сандерсон (Sanderson, 1933) указывает, что числа хромосом установлены для 30 видов из отряда *Hymenoptera* — пчел, ос, муравьев и других форм. У большинства исследованных видов числа эти кратны 8.

Ниже мы приводим неполный список чисел хромосом у *Hymenoptera* (напечатанный в Tabulae Biologicae за 1927 г.).

Почти все исследования, из которых заимствованы эти данные, очень стары и нуждаются в тщательной проверке.

В последние годы получены цитологические данные по одному виду наездников из семейства *Braconidae* — *Habrobracon juglandis*.

В связи с тем, что по этому объекту получены интересные генетические данные, встал вопрос и о цитологическом его изучении.

Уайтинг (P. R. Whiting, 1918) провел предварительный цитологический анализ этого наездника. Он нашел, что у самцов сперматогенез протекает так же, как и у других *Hymenoptera*, т. е. первое мейотическое деление абортивно, второе же эквационно.

А. Уайтинг в 1925 г. произвела пробный подсчет хромосом этого наездника и установила для самцов 11 хромосом, а для самок 22 хромосомы. Исследуя сперматогенез диплоидных (двуродительских) самцов, она нашла, что, как и у нормальных гаплоидных самцов, первое деление созревания у них абортивно, второе же, очевидно, эквационно. Более точные данные по цитологии *Habrobracon* получены лишь в самое последнее время.

Греб (Greb) в 1935 г. опубликовал работу по цитологии и сперматогенезу у *Habrobracon*. Автор исследовал нормальных гаплоидных самцов, двуродительских самцов и нормальных диплоидных самок. В работе приводятся убедительные данные, на основании которых устанавливается число и основная структура хромосом и ход сперматогенеза у этого наездника. У нормальных гаплоидных самцов Греб установил 10 хромосом, а у нормальных диплоидных самок и у диплоидных самцов 20 хромосом.

Автором прослежены и даны рисунки основных стадий сперматогенеза *Habrobracon*, где он установил, что сперматогенез протекает так же, как и у других видов из отряда *Hymenoptera*.

Что касается диплоидных самцов, то автор указывает, что сперматогенез происходит здесь так же, как и у нормальных гаплоидных, только клетки у них, благодаря двойному набору хромосом, больше, чем у обыкновенных нормальных гаплоидных самцов.

Автором установлены следующие типы хромосом для гаплоидного набора *Habrobracon*: 4 V-образных, одна из которых всегда больше других, 2 средних L-образных, 2 I-образных, одна большая палочковидная и одна хромосома, которая часто бывает палочкообразной, но может быть и маленькой V-образной.

Диплоидная группа состоит из парных хромосом, в то время как гаплоидная содержит лишь одну хромосому каждого типа.

Материал и метод

P. puparum вводится нами для генетических опытов впервые, кариология его до сих пор никем не изучалась, а между тем знание хромосомального механизма объектов, применяющихся в генетических исследованиях, является совершенно необходимым. Поэтому нами было, наряду с генетической работой, предпринято исследование хромосомного комплекса этого насекомого.

В задачу настоящего исследования входило установление числа и морфологии хромосом, а также выяснение хромосомных отношений у самцов и самок и сравнение их с другими *Hymenoptera*. Хромосомный комплекс этого наездника до сих пор никем не изучался, и никаких сведений по данному вопросу не имеется. С первых шагов в работе встретились трудности по установлению стадий, на которых встречается наибольшее число митозов, а также в подборе подходящего фиксатора для лучшего выявления морфологии хромосом. Необходимо указать, что хромосомы наездника очень мелки, что также затруднило работу.

Материалом для данного исследования служили имагинальные диски, нервный ганглий, клетки кишечника и гонады 6-, 7- и 8-дневных личинок *Pteromalus puparum*. Для установления стадии, на которой встречается наибольшее число митозов, мы фиксировали личинки, начиная с 3—4-дневного возраста до куколки, и, наконец, гонады взрослых наездников. В очень молодых личинках митозы почти не наблюдались; куколки представляли неудобный материал для обработки, так как хитиновый покров мешал при фиксации и проводке, а также резке на микротоме. Что касается гонад взрослых наездников, то при нашем методе хороших митозов получить пока не удалось. Таким образом основным материалом для наших исследований были личинки 6—8-дневного возраста.

Личинки целиком опускались в фиксатор, где они накалывались иглой или разрезались на кусочки и в таком виде проводились через всю дальнейшую обработку.

После фиксации материал промывался 24 часа в проточной воде и затем обычным способом проводился через спирты, ксилол и заливался в парафин.

Материал выдерживался 4—6 час. в термостате при температуре 56—57° и заливался в парафин. Срезы делались толщиной в 6—7 μ.

Для выявления морфологии хромосом был взят фиксатор Навашина 10—4—1 и, как основной фиксатор, был употреблен слабый и крепкий раствор хром-формола (Г. А. Левитский, 1931).

Концентрацию этого фиксатора мы брали соответственно 10% и 50% формалина и 1% и 5% хромовой кислоты.

Мною были использованы следущие комбинации:

	I	II	III	IV
10% формалина	5	4	3	2
1% хромовой кислоты	5	6	7	8
50% формалина	5	4	3	2
5% хромовой кислоты	5	6	7	8

СПИСОК

чисел хромосом у некоторых видов отряда *Hymenoptera* (по Tabulae Biological за 1927 г.)

Виды	Диплоидные	Гаплоидные	Автор
Apidae			
Apis mellifica	16 som.	8	Nachtsheim [1]
Osmia cornuta	16	8	Armbruster [2]
Xylocopa violacea	—	16	Granat[3]
Vespidae			
Vespa crabro	—	16	Meves u. Duesberg [4]
Vespa maculata	—	16 (?)	Mark u. Copeland [5]
Formicidae			
Formica sanguinea	48	24	Schleip [6]
Lasius niger	20	10	Henking [7]
Cynipidae			
Dryophanta erinacei	—	{ 12 som. 13—14 som. }	Wieman [8]
Neuroterus lenticularis	20	10	Doncaster [9]
Rhodites rosae	18 (20)	9	Henking [7]
		10—12	Schleip [10]
Chalcididae			
Ageniaspis fuscicollis	—	4	Martin [11]
Copidosoma buyssoni	—	10—12	Silvestri [12]
» *gelechiae*	—	11—12	Hegner [13]
Prospalta berlesei	—	ca. 10—12	Silvestri [14]
Paracopidosomopsis floridam	16	8	Patterson [15]
Tenthredinidae			
Croesus varus	—	7—8	Doncaster [16]
Nematus lacteus	—	ca. 8	»
» *ribesii*	ca. 16	ca. 8	»
Peoctlosoma luteolum	—	8 (7?)	»

После испытания различных фиксаторов наилучшие результаты по расчленению хромосом мы получили в результате фиксации личинок крепкой смесью хром-формола состава 5:5. Хромосомы после этой фиксации расположены в клетке совершенно свободно, что дает возможность различать индивидуальность каждой.

Слабый хром-формол (1% хромовая кислота + 10% формалин) состава 5:5 дает также хорошие картины по выявлению морфологии, но несколько хуже, чем 5:5 крепкой концентрации. Аналогич-

[1] Arch. Zellforsch. 11 (1913). [2] Arch. Zellforsch. 11 (1913). [3] Mon. Zool. Ital. 24 (1913). [4] Arch. f. mikr. Anat. 71 (1908). [5] Proc. Amer. Acad. Arts a. Sci. 43 (1907). [6] Zool. Jb. 26 (1908). [7] Zs. wiss. Zool. 54 (1892). [8] Biol. Bull. 28 (1915). [9] Proc. Roy. Soc. 83 B (1911). [10] Zool. Anz. 35 (1909). [11] Zs. wiss. Zool. 110 (1914). [12] Anat. Anz. 47 (1914). [13] Jl. of Morphol. 26 (1915). [14] Bull. Boll. Lab. Zool. R. Sc. Agr. portici 10 (1915). [15] Biol. Bull. 33 (1917). [16] Quart. Jl. mikr. Sci. 49 (1906).

ные данные по этому фиксатору имеются для хромосом некоторых растений (Левитский, 1931) и некоторых животных (Прокофьева, 1933; Бутарин, 1934).

Окрашивание проводилось железным гематоксилином Heidenhain'a. Зарисовки сделаны с микроскопом Zeiss'a — окуляр 15, объектив $^1/_{12}$ — с помощью рисовального аппарата Abbé на уровне рабочего стола. Ввиду мелкости хромосом при зарисовке была употреблена система трех зеркал. В процессе работы было просмотрено около 300 препаратов от личинок, полученных от заведомо девственных самок, и около 200 препаратов, полученных от личинок оплодотворенных самок. Из общего количества просмотренных препаратов для работы выбрано 65 препаратов, где изучено 95 пластинок. Из этого количества зарисовано 25 пластинок.

Морфология хромосом

Мною совместно с А. П. Гуль (Гуль и Дозорцева, 1934) в предварительном сообщении уже было показано, что самцы наездника содержат гаплоидный набор из 5 хромосом. Самки являются диплоидными и содержат 10 хромосом ($2n = 10$). Дальнейшее более полное исследование, которому посвящена настоящая работа, полностью подтвердило эти данные о числе хромосом.

Рассматривая пластинки хромосом как самок, так и самцов, можно притти к выводу, что почти все хромосомы двуплечие, с различного рода поперечными перетяжками. В гаплоидном наборе на одних пластинках все хромосомы двуплечие, с одной кинетической перетяжкой и медианным прикреплением нити веретена; на других 4 V-образные хромосомы и одна головчатая. Последняя хромосома лучше всего выражена в диплоидном наборе. В диплоидном наборе наблюдаются 4 пары V-образных хромосом с медианным прикреплением нити веретена и одна гетероморфная пара хромосом. Один компонент этой пары является маленькой V-образной, другой — головчатой, сильно неравноплечей хромосомой. Последняя хромосома на одних пластинках имеет проксимальную головку (фиг. 8 и 10), в то время как на других встречается хромосома, имеющая вместо головки короткое плечо, отделенное от другого плеча хромосомы кинетической перетяжкой, не всегда отчетливо выраженной. Кинетические перетяжки вообще не у всех хромосом выражены одинаково отчетливо. У одних хромосом перетяжка имеет вид очень тонкой перемычки между двумя плечами (фиг. 1 и 2, *II* хромосома); у других она наблюдается в виде легкого сжатия в теле хромосомы (фиг. 2 и 6, *I* хромосома); наконец, у третьих она представлена ахроматическим перерывом в виде щели между двумя плечами (фиг. 2, *IV* хромосома, фиг. 5, *III* хромосома, фиг. 3, *II* хромосома

и фиг. 8, *II* хромосома). Все двуплечие хромосомы углом изгиба направлены к центру пластинки. Таким образом все хромосомы являются, повидимому, равноплечими, за исключением встречающихся на некоторых пластинках головчатых хромосом.

Резкой разницы в морфологической структуре хромосом самцов и самок выявить не удалось. Хромосомы идентифицировались по величине и общей форме.

Хромосомы самца

У нормального гаплоидного самца, как уже было указано выше, имеется 5 хромосом.

I хромосома: самая крупная, почти равноплечая, с медианным положением кинетической перетяжки. На некоторых пластинках одно или оба плеча этой хромосомы имеют дистальные головки (фиг. 3 и 5).

II хромосома: двуплечая, меньше первой, на большинстве пластинок — равноплечая хромосома с первичной перетяжкой, в виде перемычек (фиг. 1, 2 и 3) или в виде ахроматического перерыва (фиг. 3). Каждое из плеч в свою очередь имеет вторичные перетяжки (перемычки и легкие сжатия). На одних пластинках вторичные перетяжки этой хромосомы расположены ближе к дистальному концу (фиг. 6), на других она расчленяет плечо на две равные части (фиг. 2).

III и *IV* хромосомы: окончательно отличить их друг от друга не удалось. Они тоже двуплечие, почти равноплечие. Одна из этих хромосом (*III*) на одном плече несет спутника, прикрепленного к дистальной головке хромосомы посредством нити; на некоторых рисунках прекрасно видно его двойное строение, благодаря метафатическому расщеплению (фиг. 3 и 6). Другая из этих хромосом (возможно *IV*) имеет на одном плече проксимальную головку (фиг. 2 и 3). В этом плече можно часто наблюдать продольное метафатическое расщепление, причем в одних случаях оно выражено очень отчетливо (фиг. 3), а в других — наблюдается только начало расщепления (фиг. 2).

V хромосома: наблюдается в одних случаях в виде маленькой V-образной, равноплечей хромосомы с перемычкой в точке прикрепления нити веретена — на одних пластинках (фиг. 6) или с первичной перетяжкой в виде легкого сжатия — на других (фиг. 1 и 2). На одном плече этой хромосомы на некоторых пластинках имеется головка (фиг. 1 и 2), в других случаях эта хромосома встречается или в виде головчатой (фиг. 4), или в виде сильно неравноплечей хромосомы (фиг. 7). Эти хромосомы наблюдаются в наборах от личинок разных самцов.

Различия двух типов этих хромосом видны лучше на диплоидных пластинках, чем на гаплоидных. Они обозначены нами на пластинках как А- и В-хромосомы.

Хромосомы самки

Диплоидная группа состоит из 4 пар двуплечих хромосом и одной гетероморфной пары, в которой представлены два типа хромосом, встречающиеся в гаплоидных наборах самца, т. е. А- и В-хромосомы.

Морфология хромосом диплоидного набора самки такая же, как и в гаплоидном наборе самца, хотя на этих пластинках детали строения выражены менее отчетливо. Возможно, что гетероморфная пара хромосом представляет собою половые хромосомы.

Из цитологических работ по *Hymenoptera* до сих пор известны главным образом работы по сперматогенезу и несколько работ по подсчету чисел хромосом, хотя числа хромосом в этих работах установлены лишь приблизительно. В последней работе по хромосомам *Habrobracon* Греб (Greb, 1935) не описывает специально морфологию хромосом, но дает лишь их общий очерк, подразделяя их на V, J, палочкообразные и т. д.

Кроме этой работы, никаких данных о морфологии хромосом *Hymenoptera* мы не имеем.

Хромосомы *P. puparum* исследуются нами впервые. Присущее хромосомам животных и растений первичное расчленение хромосом на два плеча обнаружено также и у *P. puparum*, за исключением одной хромосомы самца, которая, видимо, является одной из половых хромосом. В наборе самки обе эти хромосомы присутствуют постоянно, у самцов же в гаплоидном наборе бывает только одна из них. Таким образом данные, полученные в настоящей работе, делают весьма вероятным наличие у *Pteromalus puparum* гетероморфности половых хромосом, что было уже констатировано нами ранее в совместной с А. П. Гуль работе (Гуль и Дозорцева, 1934).

Обнаруженное на хромосомах в некоторых пластинках вторичное расчленение не на всех препаратах видно одинаково отчетливо. На одних пластинках некоторые хромосомы имеют спутников, прикрепленных к телу хромосомы посредством нити, на других — наблюдается менее резкая дифференцировка плеч хромосом. В различных пластинках это зависит, повидимому, от различной степени дифференцировки.

Установленную морфологию мы считаем предварительной.

Я приношу глубокую благодарность А. А. Прокофьевой за ценные указания во время выполнения данной работы.

Выводы

Изучение цитологии *Hymenoptera* начато после многочисленных биологических и экспериментальных исследований партеногенеза. Уже в первых, правда, неточных работах было установлено, что овогенез у *Hymenoptera* протекает нормально, в то время как в сперматогенезе наблюдаются необычные явления. Почти во всех работах указывается, что первое деление абортивно и дает начало цитоплазматической почке, а второе эквационно. Большинство авторов, работавших по цитологии паразитических *Hymenoptera*, исследовали главным образом сперматогенез, что, очевидно, объясняется, с одной стороны, легкостью получения материала для анализа гонад, а с другой стороны, интерес абортивности первого деления, отличающего сперматогенез перепончатокрылых от сперматогенеза других животных. Что касается подсчета хромосом, то по данным Сандерсона (Sanderson, 1933) числа хромосом установлены для 30 видов из отряда *Hymenoptera*, но автор указывает, что эти данные нуждаются в тщательной проверке. Хромосомы наездника *Pteromalus puparum* исследуются впервые. В этой работе установлено число хромосом у *Pteromalus puparum;* диплоидный набор у самки содержит 10 хромосом ($2n = 10$), гаплоидный у самца 5 хромосом ($n = 5$).

Наилучшей стадией для выявления морфологической структуры хромосом у *P. puparum* оказались 6—7-дневные личинки.

Лучшим фиксатором для выявления морфологии хромосом является хром-формол крепкой концентрации (50% формалин + 5% хромовая кислота) состава «5 : 5».

Установлено, что гаплоидный набор хромосом самца состоит из четырех двуплечих хромосом, являющихся по всей вероятности аутосомами, и одной, повидимому, половой хромосомы, которая на одних пластинках является V-образной, в то время как на других она представлена или головчатой хромосомой, или сильно неравноплечей с вариирующими размерами короткого плеча.

Диплоидный набор самки состоит из четырех пар двуплечих хромосом, тоже по всей вероятности аутосом, и одной гетероморфной пары половых хромосом.

Все хромосомы имеют первичное расчленение с медианным прикреплением нити веретена, кроме одной из половых хромосом, которая имеет субтерминальную кинетическую перетяжку.

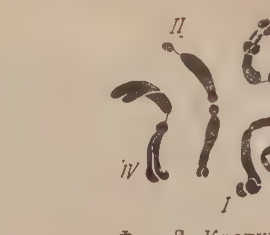
Установлено, что все хромосомы диплоидного набора самок имеют ясно выраженную морфологическую структуру, характеризующуюся присутствием первичных и вторичных перетяжек, в виде перемычек, сжатий и ахроматических перерывов. Некоторые из хромосом имеют головки и спутников.

Для *I*, *II* и *V* пары хромосом установлена индивидуальность, в



Фиг. 1. Крепкий хромформол «5 : 5»

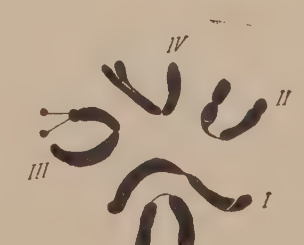
Фиг. 2. Крепкий хромформол «5 : 5»

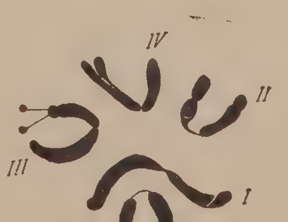


Фиг. 3. Крепкий хромформол «5 : 5»

Фиг. 4. (10, 4, 1).

Фиг. 5. Слабый хромформол «5 : 5»





Фиг. 6. Крепкий хромформол «5 : 5»



Фиг. 7. Слабый хромформол «5 : 5»

Хромосомный комплекс самца в разложенном виде (фиг. 3)



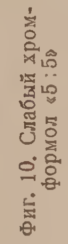
Хромосомный комплекс самца в разложенном виде (фиг. 7)

Морфология хромосом гаплоидного самца

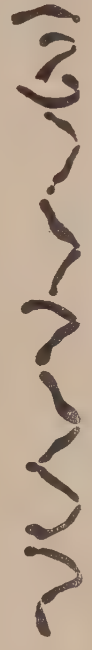
Фиг. 8. Крепкий хромформол «5 : 5»

Фиг. 9. Слабый хромформол «5 : 5»





Фиг. 10. Слабый хромформол «5 : 5»



Диплоидный набор хромосом самки в разложенном виде (фиг. 8)

Диплоидный набор хромосом самки в разложенном виде (фиг. 10)

Морфология диплоидного набора хромосом самки

то время как для *III* и *IV* пары хромосом индивидуальность выявить пока не удалось.

Половые хромосомы по всей вероятности являются гетероморфными и их различия лучше выявлены на диплоидных пластинках.

По морфологической структуре хромосомы гаплоидного набора самцов не отличаются от хромосом набора самок.

Институт генетики.
Академия Наук СССР.
Москва.

ЛИТЕРАТУРА

1. Meves F., Anat. Anz., **24**, 29 (1904).
2. Nachtsheim H., Arch. f. Zellf., **11**, 169—241 (1913).
3. Petrunkewitsch, Zool. Jahrb. Abt. Anat., **14**, 573—608 (1901).
4. Sanderson Anna R., St. Andrews Univ. Publ., **33**, 321 (1933).
5. Schrader, Quart. Rev. Biol., **6**, 411 (1931).
6. Torvik, Biol. Bull., **61**, 139 (1931).
7. Whiting P. W., Biol. Bull., **34**, 250 (1918).
8. Whiting Anna R., Genetics, **10**, 33 (1935).
9. Whiting P. W., Biol. Bull., **41**, 42 (1921).
10. Прокофьева А. А., Труды Инст. генетики АН, 10 (1935).
11. Бутарин Н. С., Труды Инст. генетики АН, 10 (1935).
12. Левитский Г. А., Труды по прикл. бот., ген. и селекции (1931).
13. Левитский Г. А., ibid.
14. Гуль А. П. и Дозорцева Р. Л., ДАН, 7, Ш (1934).
15. Greb M. T., Biol. Bull., LXVIII, 1 (1935).

R. L. DOSORCEVA. CHROMOSOME MORPHOLOGY IN *PTEROMALUS PUPARUM*

SUMMARY

The study of the cytology of *Hymenoptera* followed numerous biological and experimental investigations of the parthenogenesis. Already the first works on this subject, — inexact, to be sure, — established that the ovogenesis in the *Hymenoptera* proceeds normally, while unusual phenomena were observed in the spermatogenesis. In nearly all works it is indicated that the first division is abortive and gives rise to a cytoplasmatic kidney, while the second division is equational. The majority of authors working on the parasitic *Hymenoptera* were chiefly occupied with the spermatogenesis, which is explained, on the one hand, by the facility of obtaining material for the analysis of gonads, and on the other hand, by the interest presented in connection with the abortiveness of the first division, which distinguishes the spermatogenesis of the *Hymenoptera* from the spermatogenesis of other animals. As to the number of chromosomes, it has been established, according to Sanderson's data (Sanderson, 1933) in regard to 30 species of the *Hymenoptera*, but the author points out that these data require careful verification. The chromosomes of the *Pteromalus puparum* are investigated for the

first time. Their number has been established by the present investigation as 10 ($2n=10$) in the diploid set of the female and 5 ($n=5$) in the haploid set of the male.

The best stage for ascertaining the morphological structure of the chromosomes in the *P. puparum* is that of 6—7 days old larvae.

The best fixator for establishing the morphology of the chromosomes is chrom-formol in strong concentration (50% of formalin + 5% of chromic acid) of the composition «5 : 5».

It has been established that the haploid set in the male chromosomes consists of 4 double-armed chromosomes, which seem to be autosomes and, evidently, of one sex chromosome, which on some plates is V-shaped and on others is represented either as chromosomes with head or with a strong dissimilarity of arms with varying dimensions of the short arm.

The diploid set of the femal consists of 4 pair of double armed chromosomes, in all probability autosomes also, and one heteromorphous pair of sex chromosomes.

All chromosomes have a primary partition with a median fixing of the spindle fibre with the exception of one of the sex chromosomes which has a subterminal kinetic band.

It has been established that all chromosomes of the diploid set of females have a clearly expressed morphological structure, characterized by the presence of primary and secondary bands in the shape of cross-pieces, compressions and achromatic intervals. Some of these chromosomes have heads and satellites.

Individuality has been established for the Ist, IInd and Vth pair of chromosomes; our attempts to reveal it for the IIId and IVth pair as yet failed.

The sex chromosomes are in all probability heteromorphous and their distinctions are better shown on diploid plates.

In regard to morphological structure the chromosomes of the haploid set of males do not differ from those of the set of females.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADEMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles — Отделение математических и естественных наук

Р. Л. ДОЗОРЦЕВА

ОБ ОПРЕДЕЛЕНИИ ПОЛА У *PTEROMALUS PUPARUM*

Представлено академиком УАН **А. А. Сапегиным**

В работе приведены данные по сцепленности с полом признака красных глаз у наездника *Pteromalus puparum*. Генетические данные подтверждают полученные нами, совместно с А. П. Гуль, цитологические данные о существовании у *Pteromalus puparum* двух типов самцов, отличающихся половыми хромосомами (X+A и Y+A). Как генетические, так и цитологические данные указывают на то, что у *P. puparum* механизм определения пола сходен с описанным для *Habrobracon juglandis*.

Введение

Проблема определения пола у *Hymenoptera* уже давно привлекала внимание исследователей. Половое размножение у большинства представителей этой группы насекомых характеризуется двумя специфическими особенностями. Первая заключается в том, что самцы *Hymenoptera* происходят из неоплодотворенных яиц; вторая — в том, что первое деление сперматоцита абортивно. Эти две характерные черты согласуются с тем обстоятельством, что самцы соответствующих групп *Hymenoptera* являются гаплоидными.

Дзиерзон (Dzierzon, 1845) впервые выдвинул теорию, согласно которой трутни медоносной пчелы (*Apis mellifica*) развиваются из неоплодотворенных яиц, в то время как рабочие пчелы и матки (т. е. самки) происходят из яиц оплодотворенных. Эта теория встретила много возражений и долго дискуссировалась. Дело в том, что хотя она и приложима к таким насекомым из *Hymenoptera*, как осы, муравьи, наездники и др., но имеется довольно много исключений. Так, например, пчела Южной Африки (*Apis mellifica* var. Kaffra) дает самок от неоплодотворенных яиц, отложенных рабочими пчелами. У некоторых видов самцы отсутствуют, а самки дают партеногенетически исключительно самок. У других видов наблюдается чередование поколений, заключающееся в том, что самки и самцы, получившиеся посредством оплодотворения, появляются в одной

генерации, а партеногенетические самки, дающие самок и самцов, — в другой генерации.

У диких видов *Hymenoptera* нет доказательств существования самцов, развивающихся из оплодотворенных яиц. Вопрос о партеногенезе и определении пола у *Hymenoptera* разбирался многими авторами.

Зибольд (Siebold, 1854) при анатомическом исследовании полового аппарата пчелы-матки нашел в сперматеках сперматозоиды; он констатировал также присутствие сперматозоидов в яйцах, дающих рабочих пчел, и отсутствие их в яйцах, дающих трутней.

Диккель (Dickel, 1898) указывал, что определение пола у пчел зависит не от оплодотворения, а от секреции слюнных желез рабочей пчелы-«воспитательницы». Он предполагал, что оплодотворены все яйца, отложенные маткой-пчелой, пол же развивающихся из них особей (трутни, матки или рабочие пчелы) определяется выделением слюнных желез пчелы-«воспитательницы».

Жак (Jack, 1916) указывает, что у пчелы *Apis mellifica* условия партеногенеза такие же, как и у других *Hymenoptera*, т. е. самцы происходят из яиц, отложенных девственной самкой, а самки — из неоплодотворенных яиц.

Дальнейшие исследования в этом направлении Винклер (Winkler, 1920), Вандель (Wandel, 1931) и др. то подтверждали, то опровергали эти теории. Указывая на многие исключения, имеющиеся в определении пола у *Hymenoptera*, нужно, однако, указать, что, как правило, у большинства *Hymenoptera* самцы получаются из неоплодотворенных яиц, а самки из оплодотворенных.

На проблему определения пола у *Hymenoptera* пролили свет генетические и цитологические исследования наездника *Habrobracon juglandis* Уайтингом (Whiting P. W.) и его лабораторией. У *Habrobracon* нормально из неоплодотворенных яиц развиваются гаплоидные самцы, а из оплодотворенных — диплоидные самки. П. В. Уайтинг (1933) выдвинул теорию определения пола, согласно которой самки имеют два набора аутосом (2A) и две половые хромосомы (X и Y). Самцы развиваются из неоплодотворенных яиц и имеют 1A + 1X или 1A + 1Y. Оплодотворение яйцеклетки спермием A + X или A + Y дает самку. При скрещивании особей из неродственных культур оплодотворение яиц A + Y спермиями A + Y или яиц A + X спермиями A + X не происходит.

В последней работе по определению пола Уайтинг (1935) сделал попытку объяснить это явление. По его предположению, сперматозоид, благодаря каким-то физиологическим причинам, влияет на характер редукционного деления в оплодотворяемом им яйце (редукция происходит здесь после проникновения сперматозоида), и если яйцо оплодотворено сперматозоидом с X-хромосомой, то в направительное тельце выталкивается X-хромосома яйца, если же яйцо

оплодотворяется сперматозоидом с Y-хромосомой, то в направительное тельце выталкивается Y-хромосома.

Таким образом X-сперматозоиды оплодотворяют только Y-яйца, а Y-сперматозоиды — только X-яйца, и в обоих случаях оплодотворение приводит к образованию самки с XY-хромосомами. При скрещивании же родственных особей гомосингамия, т. е. соединение одинаковых хромосом, иногда имеет место, и при этом получаются диплоидные (biparental) самцы. Следовательно, гаплоидные самцы будут: A + X или A + Y; диплоидные самки: 2A + X + Y, а диплоидные самцы будут либо 2A + 2X, либо 2A + 2Y.

Определение пола зависит по Уайтингу, по крайней мере, от двух пар аллеломорфов, локализованных в половых хромосомах Ff и Gg. Для образования самки необходимо одновременное присутствие F и G; в отсутствие одного из них развиваются самцы. X-хромосома содержит F и g, Y-хромосома — f и G. Самки имеют, таким образом, формулу FfGg, гаплоидные самцы Fg или fG, а диплоидные самцы FFgg или ffGG.

Диплоидные самцы встречаются значительно реже, чем самки. В родственных культурах диплоидных самцов получается от 1 и менее процента до 25% всего диплоидного потомства, причем их процент никогда не бывает равен проценту самок. Эти самцы в большинстве случаев стерильны или производят стерильных дочерей. Яйца, оплодотворенные сперматозоидом диплоидного самца, производят триплоидных дочерей (Уайтинг, 1928, и P. Wand and A. R. Whiting, 1927). Культуры, содержащие диплоидных самцов, имеют меньший процент диплоидного потомства сыновей, чем культуры, где этих самцов нет.

У *Habrobracon juglandis* было найдено и другое исключение из общего правила, а именно были получены самки от неоплодотворенных яиц (Уайтинг, 1924). Это исключение было известно раньше и для других *Hymenoptera*.

Уайтинг (1924) объяснил их появление подавлением второго деления созревания или тем, что полярное тельце вновь соединяется с редуцированным ядром яйца. В обоих случаях результат получается один и тот же.

В дальнейших работах он предположил еще и третье возможное объяснение — именно, что в таких случаях оба деления созревания нормальны, а диплоидное число хромосом восстанавливается путем расщепления хромосом без последующего деления клетки. В таком случае самки из неоплодотворенных яиц должны всегда быть гомозиготными по всем локусам.

Шпейхер (Speicher, 1934) предположил, что самки из неоплодотворенных яиц получаются от овоцитов второго порядка после первого редукционного или эквационного деления.

Как уже было отмечено выше, диплоидные самцы дают диплоидную же сперму и являются полностью или почти стерильными. От скрещивания таких самцов с нормальными самками получаются триплоидные самки, которые обычно появляются в небольшом количестве. Размеры яичников этих самок меньше, чем у нормальных, и они почти стерильны. Половые реакции триплоидных самок и диплоидных самцов совершенно нормальны. Диплоидные самцы легко скрещиваются с самками, а триплоидные самки жалят гусениц, питаются ими и откладывают на них яйца.

У *Habrobracon juglandis* описаны гинандроморфы и половые мозаики, изучение которых много способствовало установлению механизма определения пола у этого объекта. Уайтинг (1924) выдвинул теорию, согласно которой мозаики развиваются из двуядерных яиц, в которых оба ядра — различной генетической конституции — участвуют в дроблении. Мозаичные самцы развиваются из неоплодотворенных двуядерных яиц, отложенных гетерозиготными самками. Гинандроморфы также получаются в результате двуядерности, но отличаются от вышеописанных мозаиков тем, что один из шаров дробления яйца оплодотворяется (Whiting and Stancaty, 1933). В результате оплодотворения одного из ядер мужские части будут нести материнские признаки, а женские будут диплоидными.

У *Habrobracon* найдены также и трехядерные мозаичные самцы,— такой мозаик получен от гетерозиготной самки; трехядерность его установлена по его генетической структуре.

Ряд исследований у *Hymenoptera* показал, что температура и Х-облучение увеличивают число мозаиков и гинандроморфов. Греб (Greb, 1933), исследуя влияние различных температур на процент появления мозаиков у *Habrobracon*, указал, что пребывание культур на холоде при очень низкой температуре (от 5 до 10° С в холодильнике 1 час) влияет на процент появления мозаичных самцов и гинандроморфов. Самки, содержащиеся при низкой температуре — от 18 до 20° С,—не дали мозаиков и гинандроморфов; более высокая температура (35—37° С), приближающаяся к верхнему пределу температуры выживания для *Habrobracon*, увеличила процент мозаиков по сравнению с контролем в четыре раза. Процент гинандроморфов при этой температуре также увеличивается по отношению к контролю.

Сцепленная с полом наследственность у наездника *P. puparum*

P. puparum, подобно *Habrobracon* и многим другим *Hymenoptera*, нормально дает гаплоидных самцов от неоплодотворенных яиц и самок — от оплодотворенных яиц. Интересно было выяснить, применима ли гипотеза Уайтинга об определении пола у *Habrobracon* к

нашему объекту. Одним из путей проверки правильности этой гипотезы мог бы явиться анализ поведения сцепленных с полом факторов у *P. puparum*. Нам посчастливилось уже вскоре после начала работы натолкнуться на один такой фактор.

В опытах по искусственному получению мутаций мы обнаружили 18 красноглазых самцов, из которых два оказались фертильными. Эти самцы скрещивались с нормальными темноглазыми самками. Полученные гетерозиготные самки, имевшие нормальные глаза, возвратно скрещивались с красноглазыми самцами, а также размножались девственно. В последнем случае от гетерозиготных самок всегда получались самцы нормальные и красноглазые, примерно в равных количествах (1 : 1), как и следовало ожидать. В результате же скрещивания были получены либо только нормальные, либо и нормальные и незначительное количество красноглазых самок. Эти данные навели нас на мысль, что мы имеем дело со сцепленным с полом признаком, при одновременном допущении у *Pteromalus puparum* двух типов самцов с X- и Y-хромосомами и гетерогаметичности женского пола (XY), как это предположено было Уайтингом для *Habrobracon*. Если бы признак красных глаз не был сцеплен с полом, то мы в случае возвратного скрещивания должны были бы ожидать получения равного количества красноглазых и нормальных особей среди того и другого пола. Точно так же в случае обычного механизма определения пола у *Pteromalus puparum* (самки — XX, самец — X) при исследовании сцепления с полом следует ожидать равное количество нормальных и красноглазых самок. Правда, можно допустить, что самки мутантного типа имеют жизнеспособность, резко пониженную по сравнению с диким типом и с мутантными самцами. Однако в нашем случае такое заключение должно быть исключено по следующим соображениям. С одной стороны, в потомстве гетерозиготных самок получается почти одинаковое количество мутантных и нормальных самцов: из табл. 1 видно, что самцы мутантного и дикого типа получаются приблизительно в одинаковом числе. От 69 гетерозиготных девственных самок получено 2875 красноглазых и 3224 нормальных самца. С другой стороны, при скрещивании красноглазых самок с красноглазыми самцами численное соотношение самок от оплодотворенных яиц и самцов от неоплодотворенных яиц в потомстве оказывается почти одинаковым с контролем; оче-

Таблица 1

Результаты вылета красноглазых и нормальных самцов от гетерозиготных девственных самок

Число поставленных гетерозиготных девственных самок	Число вылетевших красноглазых самцов	Число вылетевших нормальных самцов
69	2875	3224

видно, красноглазые самки не менее жизнеспособны, чем красноглазые самцы. Данные соотношения полов в нормальных культурах, подсчитанных на основании четырех опытов, показывают, что на 3090 самцов получено 2878 самок. В табл. 2 приведены данные от скрещивания красноглазых самок с красноглазыми самцами; в этом случае на 187 самцов приходится 102 самки; хотя число самок здесь относительно несколько меньше, однако полное отсутствие красноглазых самок в потомстве возвратных скрещиваний явно не может быть объяснено их гибелью. Нужно отметить, что несмотря на хорошую жизнеспособность красноглазые самки часто оказываются стерильными, и получать от них потомство довольно трудно.

Таблица 2

Результаты скрещивания красноглазых самок с красноглазыми самцами

№ по пор.	Число вылетевших самцов	Число вылетевших самок	Примечание
1	28	3	В 3 случаях куколки капустницы оказались пустыми, засохшими, несмотря на то, что самки кололи куколок. Во 2 случаях от такого скрещивания получено: в 1-м—1 куколка красноглазого самца и 1 красноглазой самки, во 2-м 3 красноглазых самца живых, 5 » » мертвых, 4 куколки красноглазого самца, 5 куколок красноглазой самки, 15 личинок
2	9	43	
3	33	9	
4	35	4	
5	24	9	
6	12	3	
7	16	13	
8	9	14	
9	21	4	
	187	102	

В табл. 3 приведены результаты опытов, полученные при возвратных скрещиваниях гетерозиготных по красноглазости самок с их красноглазыми отцами. В первых восьми случаях (1—8, табл. 3) получилось резкое преобладание самок дикого типа. В одном случае (9, табл. 3) получился заметный избыток красноглазых самок. И, наконец, в одном случае (10, табл. 3) красноглазые нормальные самки получились почти в одинаковом количестве.

При допущении существования у *P. puparum*, в согласии с теорией Уайтинга, для *Habrobracon* двух типов самцов X и Y и полной сцепленности признака красных глаз с полом теоретически возможны четыре типа скрещиваний гетерозиготных по красноглазости самок с красноглазыми самцами. В табл. 4 приведены результаты в каждом из этих четырех возможных скрещиваний. В первом и во втором случае должны получаться только нормальные самки, а в третьем и четвертом — только красноглазые самки. Отношение нормальных

Таблица 3

Опыты по сцеплению красноглазости с полом

№ по пор.	Родители		Потомство				Предположительный тип скрещивания
			самки		самцы		
	самки	самцы	Красноглазые	Нормальные	Красноглазые	Нормальные	
1	Нормальные гетерозиготные самки	Красноглазые самцы	3	67	10	5	AX aY × aY или AY aX × aX
2	То же	То же	6	28	12	65	»
3	»	»	—	40	50	75	»
4	»	»	3	9	128	138	»
5	»	»	—	26	31	39	»
6	»	»	—	36	26	31	»
7	»	»	4	41	31	25	»
8	»	»	6	23	33	35	»
9	»	»	33	13	13	11	AY aX × aY или AX aY × aX
10	»	»	43	39	3	9	
	Итого		98	320	357	433	

Таблица 4

Ожидаемые результаты по четырем возможным скрещиваниям гетерозиготной самки с красноглазым самцом при допущении двух типов самцов X и Y и полной сцепленности красноглазости с полом

Скрещивание	Родители		Потомство F_1		Фенотип самок P_1
	самцы	самки	самцы	самки	
1	aY	AX/aY	aY AX	AX/aY	Нормальные
2	aX	AY/aX	AY aX	AY/aX	»
3	aY	AY/aX	AY aX	aX/aY	Красноглазые
4	aX	AY/aY	AY aY	aY/aX	»

и красноглазых самцов всюду должно быть 1:1, так как самцы происходят из неоплодотворенных яиц.

Следуя схеме Уайтинга (1935), обозначим исследованный нами фактор красных глаз через «a» и его доминантный аллеломорф через «A»; тогда рецессивный самец должен быть либо aX, либо aY, а гетерозиготная самка — AX/aY или AY/aX; очевидно, в 1—8 случаях табл. 3 мы имеем скрещивание самок AXaY на самцов aY или самок AYaX на самцов aX, а в 9-м случае - самок AY/aX на самцов aY или самок AX/aY на самцов aX (табл. 4).

Первые девять случаев заставляют предположить, что мы имеем сильное сцепление между исследуемым фактором красных глаз и полоопределяющими факторами, но сцепление это, как и в случае Уайтинга, не полное, так как перекрест между геном красноглазости

и полоопределяющими факторами все же происходит и равен для 1—8 случаев 7.53%, а для 9-го случая — 28.27%. Процент перекреста ожидается в обоих случаях примерно в равном количестве. Полученную нами разницу, вероятно, можно объяснить очень малыми числами в 9-м случае.

Что касается 10-го случая, то на основании наших данных пока трудно дать ему объяснение. Мы склонны вслед за Уайтингом, также наблюдавшим аналогичные случаи для *Habrobracon,* предположить, что здесь произошел разлом половой хромосомы и транслокация фактора красноглазости на одну из аутосом, хотя считаем, что этот случай требует тщательной проверки и дальнейшего исследования.

Гинандроморфы и половые мозаики

В опытах по облучению мы получили ряд гинандроморфов и половых мозаик. Почти все они имели очень слабую жизнеспособность и были стерильны. Большинство гинандроморфов являются передне-задними, т. е. поперечными, а не право-левосторонними. Наблюдались также половинные и четвертные гинандроморфы и различные половые мозаики с более мелкими участками, несущими признаки другого пола. Половинные гинандроморфы, имевшие брюшко самки, кололи куколок капустниц, но яйца не откладывали. Даже после двух недель куколки капустниц, отнимавшиеся от таких гинандроморфных наездников, были совершенно незараженными. Гинандроморфы, имевшие брюшко самца, спаривались с самками, но потомства не давали. Кроме того, получены гинандроморфы, в которых голова или грудь были одного пола, а остальные части тела — другого пола. Встречались также и право-левосторонние гинандроморфы, хотя их было очень мало. Так, в одном случае правая половина груди и лапки были мужские, левая и две лапки — женские, передняя грудь и одна левая лапка — мужские, голова и брюшко — женские. Несколько самцов с мозаичными глазами получены от гетерозиготных самок, таков, например, самец, полученный от гетерозиготной самки по красноглазости.

Такие случаи мозаицизма известны также и у *Habrobracon*. Уайтинг (1924 г. и в позднейших работах) выдвинул теорию, согласно которой мозаики развиваются из двуядерных яиц, в которых два ядра различной генетической конституции участвуют в дроблении. У *Habrobracon* известны также и мозаики, происходящие от трехядерных яиц. Относительно происхождения мозаицизма *P. puparum* пока ответ трудно дать, так как специальным изучением этого вопроса мы не занимались, но полученные данные заставляют предположить, что в большинстве случаев развитие мозаиков идет так же, как и у *Habrobracon*, т. е. из двуядерных яиц.

Мы ограничиваемся здесь беглым описанием гинандроморфов и мозаиков, так как, с одной стороны, потомство от них нам пока получить не удалось, а, с другой, — мы ставим себе дальнейшей задачей их более подробное генетическое исследование.

Я выражаю глубокую благодарность Я. Я. Лусу и С. М. Гершензону за помощь и критику данной работы.

Выводы

Половое размножение у большинства *Hymenoptera* характеризуется двумя особенностями: первая заключается в том, что самцы *Hymenoptera* происходят из неоплодотворенных яиц; второе — в том, что первое деление сперматоцита абортивно. Эти особенности согласуются с тем обстоятельством, что самцы соответствующих групп *Hymenoptera* являются гаплоидными.

P. puparum подобно другим *Hymenoptera* дает нормально гаплоидных самцов от неоплодотворенных яиц и самок от оплодотворенных яиц.

Проведенное в данной работе исследование гена красных глаз у *P. puparum* путем скрещивания гетерозиготных самок с рецессивными красноглазыми самцами, а также при партеногенетическом размножении девственных гетерозиготных самок, показало следующие результаты:

Среди самцов наблюдается отношение 1 : 1 нормальных и красноглазых, а среди самок наблюдается значительное уклонение от этого отношения. В 8 случаях в потомстве от возвратно скрещенных гетерозиготных самок с красноглазыми самцами нормальных самок было гораздо больше, чем красноглазых; в одном случае получено преобладание мутантных красноглазых самок и в другом случае получено почти одинаковое количество нормальных и красноглазых самок.

Относительно первых девяти случаев предположено, что имеется сильное сцепление между исследуемым фактором красноглазости и участком половой хромосомы, несущим полоопределяющие факторы, но что это сцепление не полное, ввиду имеющегося перекреста, равного для 1—8 случаев 7.53%, а для 9-го случая 28.27%. Несоответствие полученного процента перекреста в этих двух случаях можно, очевидно, объяснить очень малыми числами особей в 9-м опыте. В 10-м случае предположено, что произошел разлом и транслокация фактора красноглазости на одну из аутосом, хотя мы считаем, что этот случай требует тщательной проверки и дальнейшего исследования.

Все изложенные выше данные говорят о сцепленности с полом признака красных глаз у *P. puparum*.

В работе получены некоторые данные, указывающие на более слабую фертильность и жизнеспособность мутантного красноглазого типа.

Таким образом генетические данные подтверждают полученные нами ранее, совместно с А. П. Гуль, цитологические данные и говорят за то, что у *P. puparum* механизм определения пола сходен с описанным для *Habrobracon*.

Получены гинандроморфы и половые мозаики; они в большинстве передне-задние, половинные и четвертные, встречались и право-левосторонние, но очень редко. Все гинандроморфы и половые мозаики проявили стерильность и слабую жизнеспособность.

Институт генетики.
Академия Наук СССР.
Москва.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bostian C. H., Biol. Bull., **66**, 166—181 (1934).
2. Bostian C. H., Amer. Nat., **69**, 57—58 (1935).
3. Bostian C. H., Genetics, **20**, 280—285 (1935).
4. Castle W. E., Bull. Mus. comp. Zool. Harvard College, **40**, 187—218 (1903).
5. Dzierzon J., Eichstadt, Bienenzeitung, **1**, 113 (1933).
6. Greb R. J., Biol. Bull., **65**, 179 (1933).
7. Greb R. J., Am. Nat., **67**, 88 (1933).
8. Hase A., Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt für Land und Forstwirtschaft, **11**. 95—168 (1922).
9. Jack R. W., Trans. Entomol. Soc., London, 396—403 (1916).
10. Speicher K. G., Biol. Bull., **67**, 277—293 (1934).
11. Whiting P. W., Greb R. J. and Specer B. R., Biol. Bull., **66**, 152—165 (1934).
12. Whiting Anna R., Journ. Genetics, **29**, 99—107 (1934).
13. Whiting P. W., The Collecting Net Woods Hole, 8, 113—122 (1933).
14. Whiting P. W., Science, **78**, 537—538 (1933).
15. Whiting P. W. and Anderson R. L., Amer. Nat., **66**, 420—432 (1932).
16. Whiting P. W., Anat. Rec., **29**, 146 (1924).
17. Whiting P. W., Genetics, **17**, 1 (1932).
18. Whiting P. W., Biol. Bull., **63**, 296 (1932).
19. Whiting P. W., Genetics, **19**, 268 (1934).
20. Whiting P. W. and Benkert L. H., Genetics, **19**, 237 (1934).
21. Whiting P. W., Journ. of Heredity, XXVI, 7, 268—278 (1935).
22. Гуль А. П. и Дозорцева Р. Л., ДАН, III, 7 (1934).

R. L. DOSORCEVA. ON DETERMINATION OF SEX IN *PTEROMALUS PUPARUM*

SUMMARY

In the majority of *Hymenoptera* sexual reproduction is characterized by two peculiarities: 1) the males of *Hymenoptera* are produced from unfertilized eggs; 2) the first division of the spermatocite is abortive. These peculiarities are in accordance with the circumstance that the males of the corresponding groups of *Hymenoptera* are haploids.

P. puparum like other *Hymenoptera* produce normal haploid males from unfertilized eggs and females from fertilized eggs.

Following statements result from the investigation of the red-eye gene in the *P. puparum* which was carried out by means of crossing heterozygous females with recessive red-eyed males, as well as by parthenogenetic reproduction of virgin heterozygous females.

Among the males a ratio of 1 : 1 is observed in regard to normal and red eyes, while among the females there is a considerable deviation in this respect. In 8 cases the progeny of back-crossed heterozygous females and red-eyed males showed a much greater number of normal females than red-eyed ones; in one case a dominance of mutant red-eyed females was obtained; and in one case else there was an almost equal number of normal and red-eyed females.

Concerning the first 9 cases it is supposed that there is a strong linkage between the investigated factor of red-eyedness and the sphere of sex chromosome containing sex-determining factors, but that this linkage is not a complete one in view of the existing crossing which in the cases 1–8 is equal to 7.53% and in the 9th case, 28.27%. The disparity in the percentage obtained in these 2 cases may be evidently explained by the very small number of species in the 9th test. In the 10th case it is supposed that a break of the factor of red-eyedness and a translocation to one of the autosomes has taken place, although we are of the opinion that this case must be carefully verified by further investigation.

All the above mentioned data indicate a linkage between the sex and the red-eyed character in the *P. puparum*.

This work has furnished certain data indicating a weaker fertility and viability of the mutant red-eyed type.

Thus, the genetic data confirm the cytological data previously obtained by the author and A. P. Hull in common and indicate that in the *P. puparum* the mechanism of sex determination is similar to that described in *Habrobracon*.

There have been obtained gynandromorphous and sexual mosaics; they were in most cases front and back, halves and quarters, there have also been observed right and left, but only in rare cases. All gynandromorphous and sexual mosaics have proved to be sterile and of slight viability.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathematiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

С. В. КИРИКОВ

ОБ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ СВЯЗЯХ МЕЖДУ ОРЕХОВКАМИ (*NUCIFRAGA CARUOCATACTES* L.) и ЕЛЯМИ (*PICEA*)

(К вопросу о взаимоотношениях между высшими растениями и высшими животными)

(*Представлено академиком* **А. А. Борисяком**)

В работе указывается на прямую зависимость между распределением тянь-шаньской ореховки (*Nucifraga c. rotschildi* Hart.) и урожаем семян *Picea schrenkiana* в ельниках Нарын-тау (Центральный Тянь-Шань), объясняемую исключительным значением еловых семян в питании этой птицы.

Утверждение Rikli (1909) о том, что морфологические отличия европейской (*N. c. caryocatactes*) и сибирской (*N. c. macrorhynchos*) ореховок, заключающиеся в различной длине и толщине клюва, находятся в соответствии с толщиной скорлупы орешков европейского и сибирского кедра, не соответствует действительности. Автор приводит ряд доказательств, отрицающих подобную корреляцию.

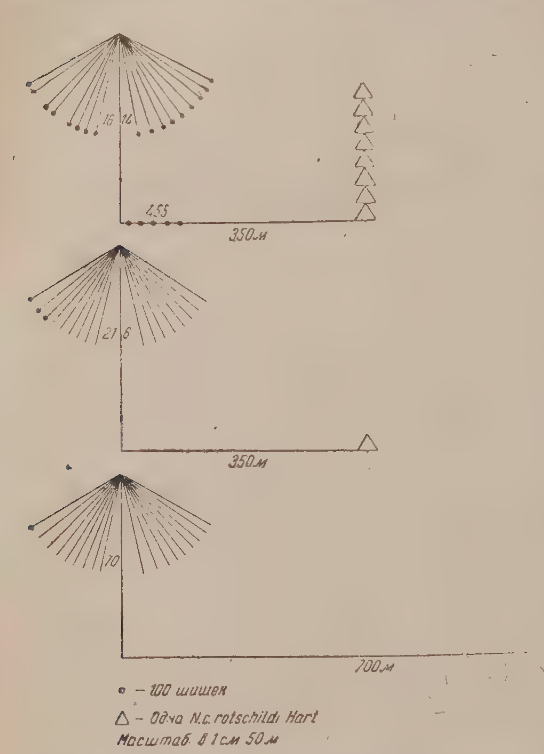
Ареал европейской ореховки гораздо больше, чем ареал европейского кедра, и гораздо точнее совпадает с ареалом елей; ареал тянь-шаньской ореховки точно совпадает с ареалом елей, произрастающих в Средней Азии (главным образом с *Picea schrenkiana*); ареал центрально-азиатских *Nucifraga caryocatactes hemispila* и *N. c. multipunctata* также в значительной степени совпадает с ареалом центрально-азиатских елей (преимущественно *P. schrenkiana* и *P. morinda*).

На тесные связи между некоторыми животными и растениями было указано еще Миддендорфом (1869), полагавшим, что эти связи «принадлежат к числу самых неуловимых предметов естествоведения».

В качестве примеров тесных соотношений между определенными животными и растениями он указывал тетерева (*Lyrurus tetrix*) и березу (*Betula*), дикушу (*Falcipennis falcipennis*) и аянскую ель (*Picea yezoensis*), бурундука (*Eutamias asiaticus*) и сибирскую ель (*Picea obovata*) вместе с пихтой (*Abies sibirica*) и особенно подробно останавливался на примере ореховки (*Nucifraga caryocatactes* L.) и сибирского кедра (*Pinus cembra sibirica*). Экологической связи между ореховками и кедром (*Pinus cembra*) касается целый ряд работ ботаников и зоологов, и Элтон (1934) приводил ореховку как пример животного, связанного исключительно с сообществом кедра.

В действительности же эта связь не является ни единственной, ни исключительной, и существует не менее тесная связь между ореховкой (*Nucifraga caryocatactes*) и елями.

Основанием для такого утверждения явились мои наблюдения в ельниках Нарын-тау, где *Nucifraga caryocatactes rotschildi* Hart. — не ореховка и не кедровка: по занимаемым местообитаниям и по характеру питания она здесь ельница [1].



Фиг. 1. Урожай семян ели в различных участках еловых лесов Нарын-тау и количество встреченных ореховок (*N. c. rotschildi* Hart.)

В списке птиц, типичных для горных тянь-шаньских ельников и не покидающих их даже на зиму, она поставлена у Шнитникова (1934) первою, раньше клеста (*Loxia curvirostra*) и трехпалого дятла (*Picoides tridactylus*). К сожалению, мне ничего не известно о распределении чар-карги по тянь-шаньским ельникам в гнездовой период, но в августе и сентябре 1935 г., тех месяцах, которые я пробыл в ельниках Нарын-тау, чар-карга встречалась лишь в тех лесных участках, где на елях были шишки этого года [2], и тем чаще, чем больше было шишек.

Прямая зависимость между плотностью распределения чар-карги и урожаем еловых семян сразу бросилась в глаза, как только я попал в нарынские ельники. На пути из Каинды в урочище Байбиче (19 августа 1935 г.) встречались участки ельников, где совсем не было шишек, либо их было очень мало, на других участках их было сравнительно много. В первых участках чар-карги не было совсем, во вторых кое-где можно было заметить одиночных ореховок, и довольно много их было видно только в двух участках — на Байбиче и на перевале Куганды.

[1] В дальнейшем тянь-шаньскую ореховку я буду называть по-киргизски «чар-каргой».

[2] Я оговариваюсь: на елях остаются шишки прошлых лет, но они, конечно, никакого влияния на распределение чар-карги не имеют.

В последнем урочище на километре подъема (тропа здесь идет по опушке леса) я насчитал 23 ореховки на полосе шириной на выстрел (50 шагов, равных 35 м). Первое путевое впечатление было подтверждено учетом шишек и чар-карги, который я проделал через несколько дней в урочищах Байбиче и Ой-Шильбэ. Мною было выбрано три участка, наиболее типичных для урожая ели в нарынских ельниках в 1935 г. Урожай ели определялся путем подсчета всех шишек на шеренге деревьев, расположенных по одну сторону от линии намеченного маршрута, а количество чар-карг — путем подсчета птиц, замеченных на расстоянии выстрела (35 м) от этой же линии (фиг. 1).

Такая зависимость между распределением чар-карги и урожаем еловых семян имеет одну причину — кормовую, и это подтверждается как анализом содержимого желудков, так и непосредственными наблюдениями. Объемное количество (в кубических сантиметрах) и встречаемость различных видов корма, а также и процентное соотношение их, может быть представлено табл. 1.

Таблица 1

Виды корма	Встречаемость		Объем	
	В скольких желудках	В % от общего кол. жел.	В абсолютных цифрах (см³)	В % от общего количества
Остатки еловых семян	22	95.7	51.95	86.85
Остатки жуков и перепончатокрылых (преимущественно жуков)	15	65.2	6.65	11.12
Остатки саранчевых	1	4.3	0.25	0.42
» моллюсков	8	34.8	0.395	0.66
Костянки ягод (преимущественно *Lonicera* sp.)	6	26.0	0.57	0.95
Камешки	2	8.7	0.01	тысячные доли процента

Общее количество желудков 23, время сбора — август и сентябрь 1935 г.

Анализ содержимого желудков лишь документирует и иллюстрирует те выводы о питании чар-карги, к которым приводят непосредственные наблюдения над распределением и образом жизни этой птицы в ельниках Нарын-тау. Еловые семена не были встречены только в одном желудке чар-карги, в котором были найдены саранчевые.

Эта птица была добыта из небольшой стайки ореховок, перекочевывавших по пустынно-степному склону из ельника в урочище Кара-таш, где был полный неурожай еловых семян и где отдельные единичные шишки были все сброшены и расклеваны чар-каргой к началу августа (9 августа 1935 г.). Остатки жуков были найдены

в большинстве собранных желудков, но во всех из них (за исключением одного) они составляют незначительную примесь к еловым семенам. Тот же самый вывод можно было сделать и из непосредственных наблюдений: очень часто приходилось наблюдать, как ореховки, покончив с расклеванной шишкой и отправившись в лес за новой, останавливались в воздухе, как пустельга, и, высмотрев добычу, падали на землю, ловили какое-нибудь насекомое, а потом опять отправлялись за шишками. Несколько раз видел ореховок, добывавших каких-то жуков-навозников на Тарагайской тропе. Еще меньшее значение в питании чар-карги имеют моллюски. Главным и основным кормом тянь-шаньской чар-карги являются еловые семена, и этот корм отражается даже на внешности чар-карги: у некоторых из них клювы утолщаются вдвое за счет прилипшей смолы. Особенно толсты бывают клювы в августе, когда температура держится днем около 30°, и смола на шишках липнет, как мед. В сентябре становится холодней, подсерневшая смола прилипает гораздо слабей, и поэтому клювы не только перестают утолщаться, но начинают значительно худеть.

Семенами ели чар-карга начинает кормиться очень рано и, повидимому, любит мягкие, еще не совсем созревшие семена [1]. Уже в начале августа (10-го) все встречавшиеся чар-карги были на елях, под которыми валялось много сброшенных и расклеванных шишек. (14 августа в лесу между Байбиче и Джиргилбаем под одною елью я насчитал 45 шишек, под другой 65 и под четырьмя рядом стоявшими елями — 345.)

Чтобы сорвать шишку, чар-карга хватает клювом веточку и крутит ее из стороны в сторону, пока веточка не отломится. Если же это не удается, чар-карга цепляется за шишку лапами и, вися вниз головой, все-таки отрывает ее. Если шишка падает на землю или ореховка потревожена при расклевывании, то с земли она переносит шишку, вбивая в нее клюв между чешуйками.

Сорванную шишку она расклевывает иногда на этой же самой ели, укладывая ее горизонтально на толстом суку, в том месте, где от него отходит пучок мелких веточек, направленных кверху и поддерживающих шишку с боков. Гораздо чаще она уносит шишку в свою «столовую», где шишек накапливается не меньше, чем в дятловых кузницах наших (среднерусских) лесов. Для этого она выбирает чаще всего развилку упавшей или наклоненной сухостойной ивы, сломленную ель или подгнивший пень. Реже чар-карга расклевывает шишку, ставя ее вертикально в мох, или отлетает с нею из леса на полупустынные каменистые склоны.

---

[1] Сибирская кедровка (*Nucifraga caryocatactes macrorhynchos* Brehm.) нападает на кедровые орехи также очень рано, в стадии молочной спелости.

У самого серьезного конкурента тянь-шаньской чар-карги (в отношении корма) — у клеста-еловика (*Loxia curvirostra*) — способ расклевывания шишек иной: клесты не срывают и не уносят шишек, а расклевывают их на ветвях, на весу, и не поднимают упавших на землю. Кроме того, клесты едят еловые семена, обязательно очистив их от кожуры (чар-карга ест неочищенные), и только своеобразное



Фиг. 2. Семена *Picea schrenkiana: a* — из пищевода клеста, *b* — из желудка ореховки.

устройство клюва, прекрасно приспособленное для раскрывания чешуй, позволяет клестам проделывать все это на висящих шишках (фиг. 2).

Этими особенностями расклевывания шишек и поедания семян объясняется, почему на местах кормежки клестов всегда падает такое большое количество шишек и почему в них остается так много неиспользованных семян (от $^1/_2$ до $^2/_3$ по Формозову, 1934).

И все-таки для возобновления тянь-шаньской ели, семенами которой они питаются, чар-карга имеет гораздо большее значение, чем клест.

Шишки, сбрасываемые клестом, падают всегда под материнское дерево, и поэтому всходы семян, если и появятся, имеют мало шансов на превращение их в здоровый молодняк в силу неблагоприятных условий произрастания под материнским пологом (главным образом световых).

Чар-карга же активно и довольно далеко разносит шишки и часть из них прячет в мох.

В первый раз я заметил это в одном из ущелий (в урочище Куганды), где чар-карга срывала шишки, относила их на другую

сторону ущелья (шагов за 300), спускалась на землю и быстро возвращалась за новой шишкой.

Сначала я подумал, что ей попадались плохие шишки, но через несколько часов, возвращаясь с перевала и спускаясь вниз, я увидел, что мое предположение неверно. Выкапывая всход ели из мха близ того места, где опускалась чар-карга, в стороне (тоже во мху) я нашел нынешнюю молодую шишку, запрятанную в мох, а потом другую, третью; их было штук семь, сидевших под мхом, как грузди.

Указанная уже зависимость между распределением чар-карги и урожаем еловых семян в нарынских ельниках и преимущественное, почти исключительное значение еловых семян в ее питании заставляли ожидать, что с уничтожением всех нынешних шишек чар-карга куда-то откочует из нарынских ельников.

К концу сентября 1935 г., т. е. ко времени моего отъезда, все меньше оставалось шишек на деревьях, все больше их валялось на земле.

В конце октября, по сообщению М. И. Антошина, техноpука Нарынского лесхоза, за 10 дней, проведенных им в Нарынской даче, ему не встретилось ни одной чар-карги. Не нашел он также и ни одной нынешней шишки: все они были сорваны и расклеваны чаргой.

«Если только есть на свете чар-карга, непременно настреляю и пришлю вам», письменно обещал он мне; обескураженный отсутствием чар-карги, но ни в ноябре, ни в декабре на Нарынском свете чар-карги уже не было.

Столь тесную зависимость между тянь-шаньской чар-каргой и тянь-шаньской елью интересно сопоставить с отношением ореховок из других областей к хвойным породам — главным образом кедру и другим видам ели, а также сопоставить экологические и морфологические особенности ореховок из различных частей ее ареала. Прежде всего отметим, что некоторые особенности биологии ореховки (*Nucifraga caryocatactes*) проявляются одинаковым образом на всем ее ареале.

Хорошо известно, с каким трудом можно отыскать гнездо ореховки (*Nucifraga caryocatactes*) даже там, где она очень часто встречается. Тугаринову и Бутурлину (1911), например, не удавалось найти гнезд в Енисейской губ.

«До Петрова дня кедровки не слышно», замечает о тобольской *Nucifraga caryocatactes macrorhynchos* и Словцов (1892), а казанская, по замечанию Рузского (1892), «ведет образ жизни тихий и скрытный». Tschusi (1909) дважды предпринимал специальные поиски ореховки в австрийских Альпах и оба раза безуспешно, хотя в поисках участвовало большинство ребятишек горного села, которым была обещана крупная денежная награда за находку гнезда. Совсем

по-иному ведут себя ореховки после того, как вырастут молодые и начнутся кочевки.

Тот же Tschusi (1909) указывает, что после того как вырастут молодые, ореховки становятся очень заметными, залетают в сады и позволяют наблюдать себя в нескольких шагах.

«Шум, крики и драки кедровки всюду оглашают наши северные урманы», замечает Словцов (1892) о тобольской кедровке, которой, по его же словам, совсем не слышно до тех пор, пока поднимется на ноги детва.

К тянь-шаньским ореховкам можно без труда подойти на несколько шагов и подолгу наблюдать за ними.

Ореховки, прикочевавшие в Южную Башкирию в 1927 г., не только не боялись человека, но по целому километру провожали нас, перескакивая и перелетая вдогонку.

Зарудный (1888) также поражался изумительной доверчивостью прилетавших в Оренбургский край птиц, обращавших на человека не больше внимания, чем «на барана, корову или лошадь».

То же самое замечал и Карамзин (1901) об ореховках, залетевших в Бугурусланский уезд: «доверчивость их была изумительна, — они едва не позволяли брать себя руками».

Так же доверчивы были и ореховки, наблюдавшиеся Шнитниковым (1913) в Полесьи. Аналогичные указания можно отыскать во многих фаунистических работах, где только упоминается *Nucifraga caryocatactes* L.

Другой очень характерной для ореховки биологической чертой является прятанье про запас продуктов питания. На Тянь-Шане она прячет в мох еловые шишки, в Сибири еще охотней и в больших размерах откладывает в укромных местах кедровые орехи и целые кедровые шишки. В печорских лесах, по указанию Латкина (1853), она складывает из кедровых шишек целые кучки. Tschusi (1909) наблюдал, как ореховка буквально рассаживала в саду орех за орехом, несколькими ударами клюва предварительно приготовив углубление в моховом покрове и прикрыв его после того, как орех положен.

Сходные биологически ореховки занимают и сходные местообитания. На всем обширном ареале местообитаниями ореховок в гнездовой период являются хвойные леса, еловые и кедровые по преимуществу.

Тесная связь ореховки с кедром была замечена давно и привлекала к себе внимание многих натуралистов. «Мало, кажется, птиц, которые так положительно обречены на известную любимую пищу, как ореховка на кедровые орехи, — замечает Миддендорф (1869). — В ней развился, так сказать, вполне выработанный прием срывания

шишек, раскусывания орехов и накапливания потаенных запасов на черный день».

Rikli (1909) утверждал даже, что морфологические отличия европейской и сибирской ореховок, заключающиеся в различной длине и толщине клюва, находятся в соответствии с толщиной скорлупы орешков европейского и сибирского кедра.

Однако Kleinschmidt (1911) отрицал существование подобной корреляции, основываясь на том, что разница в толщине скорлупы европейского (*Pinus cembra cembra*) и сибирского (*Pinus cembra sibirica*) кедра, если и существует, то настолько незначительна, что не может оказывать никакого влияния на развитие клюва ореховок.

Помимо этого указания (Kleinschmidt'a) можно привести еще целый ряд доказательств, отрицающих предположенную корреляцию.

Известно, что орешки корейского кедра (*Pinus koraiensis* Sieb. et Zucc.) значительно крупнее орешков обеих рас *Pinus cembra* и *Pinus cembra cembra* и *Pinus cemba sibirica* [длина семян, по Овсянникову (1934), 15—17 мм, а ширина 9—11] и что они обладают более твердой и толстой скорлупой, чем орехи *Pinus cembra cembra*. Если бы корреляция между толщиной и массивностью клюва ореховки и толщиной скорлупы кедровых семян действительно существовала, как это предполагал Rikli, то клюв амурских ореховок был бы значительно массивней и толще, чем клюв альпийских и карпатских ореховок.

В действительности же в лесах южной части Дальневосточного края, где распространен корейский кедр (*Pinus koraiensis* Sieb. et Zucc.), обитают ореховки, не отличимые по форме и размерам клюва от типичных сибирских (*Nucifraga caryocatactes macrorhynchos* Brehm.).

Это хорошо видно, если сопоставить размеры клювов ореховок из различных частей Сибири, где распространен сибирский кедр (*Pinus cembra sibirica*), с ореховками из Приамурья, входящего в область распространения корейского кедра (*Pinus koraiensis* Sieb. et Zucc.).

Одну из туруханских ореховок, добытую Слудским 25 апреля 1935 г. на Большом Елагуе (взрослый ♂), укажу особо и в таблицу не включаю: эта птица по размерам и форме клюва не отличима от европейских *Nucifraga caryocatactes caryocatactes* (длина клюва 33.7 мм, высота 13.9 мм; отношение высоты к длине — 0.41).

Предположение Rikli (1909) не подтверждается и со стороны тяньшаньских чар-карг (*Nucifraga caryocatactes rotschildi* Hart.), ни в какой степени не связанных с кедром (*Pinus cembra*) и почти таких же толстоклювых, как и европейские (*Nucifraga caryocatactes caryocatactes*).

Таблица 2

Местонахождение	Когда добыты	Количество экземпляров	Длина клюва (от переднего края ноздревого отверстия до вершины клюва) (в мм)	Высота клюва (у переднего края ноздрей) (в мм)	Отношение высоты клюва к длине
Приамурье (окрестности оз. Болонь, стойбище Н. Халбы, д. Сафониха, р. Горюн, ст. Боктор)	VII, VIII, IX, XI 1932 г.	10	39.4—43.4	12.6—14.0	0.30—0.35
Прибайкалье (Бухта Сосновка, р. Шигнанды, р. Хакуксы, Малые Коты, Ушканий остров, Вершино-Тутурская культбаза, Чивыркуй, Больше-Глубоковское охотничье хозяйство)	III, VI, VII, VIII	12	36.5—44.5	12.4—13.9	0.30—0.35
Туруханский край (окрестности с. Подкаменная Тунгузка, среднее течение р. Сот, р Большой Елагуй)	IV, V, VIII, IX 1932 и 1935 гг.	9	35.4—14.6	12.4—14.6	0.30—0.36
Алтайский заповедник	III, VII, VIII 1934 и 1935 гг.	17	36.7—46.1	12.3—13.7	0.28—0.37
Сургут (окрестности с. Тундрина)	VII, VIII 1932 г.	11	38.7—48.5	11.1—12.7	0.28—0.34

Таблица 3

Местонахождение	Когда добыты	Количество экземпляров	Длина клюва (в мм)	Высота клюва (в мм)	Отношение высоты клюва к длине
Центральный Тянь-Шань и Джунгарский Алатау (Нарын-тау, лесные склоны р. Лепсы, Сархан, верховья Каркары, Нарынкал, Музарт, Кульджа,	VI и VII 1841 г. VIII и IX 18 5 и 1876 гг. VIII 1882 г. IX 1910 г. VIII и IX 1935 г.	34	34.2—39.6	13.6—15.6	0.37—0.44
Европа (Прибалтика) (1 экз.) Беловежская пуща (1 экз.), Московская обл. (Можайский, Дмитровский, Серпуховский районы, Лосиный Остров), Ивановская область (Владимирский и Переяславльский районы)	III, IV, VI, и VII[1] 1875—1934 гг.	14	30.1—41.7	14.7—16.8	0.38—0.43

[1] Ореховки, добытые в августе в европейской части Союза, не включены в таблицу, так как с августа у них уже начинаются кочевки, и сюда могли залететь сибирские.

Довольно большой материал, имевшийся в моем распоряжении (коллекции Московского зоологического музея, Института пушного хозяйства и собственные сборы — всего около 200 экземпляров), позволяет не только указать количественные соотношения размеров клюва восточно-европейских, сибирских и среднеазиатских ореховок, но и отметить некоторые особенности их распространения в пределах нашей страны. Принято считать (Штегман, 1932, и Дементьев, 1935), что вся европейская часть Союза до Урала населена типичной толстоклювой расой (*Nucifraga caryocatactes caryocatactes* L.). Однако есть основания полагать, что восточная часть Северного края заселена не типичной европейской, а сибирской тонкоклювой расой (*Nucifraga caryocatactes macrorhynchos* Brehm.). Правда, материал для этого предположения очень невелик: указание Андреева и Бианки о том, что ореховка, добытая 12 июля 1909 г. в лесу у д. Койтыбожа, к западу от Устьсысольска, относится к тонкоклювой форме (*Nucifraga caryocatactes macrorhynchos*) и несомненна принадлежность ореховки, добытой 6 июля 1929 г. на Печоре Дмоховским, к тонкоклювой расе (*N. c. macrorhynchos*)[1]. Такое распространение сибирской тонкоклювой расы ореховки не является неожиданным и находит себе целый ряд аналогов в области распространения высших растений и позвоночных. Сибирская ель (*Picea obovata*), сибирский кедр (*Pinus cembra sibirica*), сибирская лиственница (*Larix sibirica*), бурундук (*Eutamias asiaticus*), красная (*Evotomys rutilus*) и красно-серая (*Evotomys rufocanus*) полевка, лесной лемминг (*Myopus schisticolor*) далеко к западу заходят только в северной части Европы. Сибирь идет в Европу по северу.

Из других особенностей распространения следует указать и на то, что ареал толстоклювой ореховки (*Nucifraga caryocatactes caryocatactes*) гораздо шире, чем ареал европейского кедра, и гораздо точнее совпадает с ареалом елей (*Picea excelsa, Picea omorica* и отчасти *Picea obovata*).

Европейская *Nucifraga caryocatactes caryocatactes* в основном — ельница, как и тянь-шаньская чар-карга (*Nucifraga caryocatactes rotschildi* Hart.). Это легко доказать, перечислив занимаемые ею местообитания в различных частях Европы, в особенности Восточной, орнитологическая литература по которой мне известна гораздо лучше, чем по Западной.

На Балканском полуострове (Otmar Reiser, 1910) основными местообитаниями ореховки являются еловые и пихтовые леса и в меньшей мере сосновые боры из *Pinus peuce* Grisebach. в Болгарии и *Pinus leucodermis* Ant. в западной части Балкан.

---

[1] ♂; ad; между с. Троицким-Печерским и Покчей; елово-березовый лес, 6 июля 1929 г. Длина клюва 45.5 мм; высота клюва — 13.7 мм, отношение 0.30.

В Белоруссии ореховка, кроме ельников, нигде на гнездовьи не встречается (Федюшин, in litt.). В б. Смоленской губ. Станчинским (1927) ореховка указана только в еловом, елово-широколиственном и елово-ольховом лесах, но характерна для чистого ельника.

Gengler и Кавелин сообщают, что в Козельском уезде ореховка - не редкая гнездящаяся птица, особенно в хвойных лесах.

В северной части б. Казанской губ. (б. Мамадышском уезде) (Рузский, 1893) ореховка гнездится в елово-пихтовых лесах.

На Среднем Урале (Сабанеев, 1874) ореховка гнездится в виде исключения по восточному склону, но в ельниках и пихтовниках западного склона попадается в большом количестве.

Даже в Сибири (особенно Западной) *Nucifraga caryocatactes macrorhynchos* — не только кедровка, но в значительной степени ельница. По данным Словцова (1892) в б. Тобольской губ. *Nucifraga caryocatactes* «встречается преимущественно в елово-кедровых лесах».

В б. Енисейской губ., по указанию Тугаринова и Бутурлина (1911), летом *Nucifraga caryocatactes macrorhynchos* Brehm. чаще всего встречается там, где имеются елово-пихтовые насаждения. На хребте Танну-ола, в Северо-западной Монголии (Тугаринов, 1911) она населяет «зону кедра и ели».

В охотских еловых лесах, где птиц не много, и они редко попадаются на глаза, «постоянно дает знать о себе *Nucifraga caryocatactes* (*? macrorhynchos*)» (Шульпин, 1934). Что касается Средней и Центральной Азии, то и там *Nucifraga caryocatactes* заселяет главным образом еловые леса.

Тянь-шаньская чар-карга (*Nucifraga caryocatactes rotschildi* Hart.), как я уже указывал,— чистая ельница.

В Ганьсу местная ореховка (*Nucifraga caryocatactes hemispila* Vig.) держится исключительно в горных еловых лесах (Березовский и Бианки, 1891).

В Гималаях местообитаниями этой же птицы (*Nucifraga caryocatactes hemispila* Vig.) являются леса из ели (*Picea morinda*), сосны (*Pinus excelsa*) и настоящего кедра (*Cedrus deodara*) [Baker (1922)].

Другая гималайская ореховка (*Nucifraga caryocatactes multipunctata* Gould.) занимает [Baker (1922)] те же местообитания, а главной ее пищей (Osmaston, 1927) являются семена мориндской ели (*Picea morinda*) и гималайской сосны (*Pinus excelsa*).

Суммируя приведенные указания о распространении и местообитаниях *Nucifraga caryocatactes*, можно определенно отметить, что ее по праву должно называть ельницей и кедровкой.

Обеим этим группам растений (как и вообще хвойным породам) свойственна периодичность плодоношения, а питающейся их семенами *Nucifraga caryocatactes* равным образом свойственны кочевки и миграции в случае их неурожая.

Лучше других известны миграции сибирской кедровки, о которой заметил еще Миддендорф (1869), что «ей приходится улетать в самые далекие края, коль скоро дома не уродился ее плод». Словцов (1892) считал, что «местные неурожаи заставляют их [ореховок] перелетать в пределах западно-сибирской низменности, а повсеместные заставляют расширять область своих путешествий в Западную Европу». Он же полагал, что необыкновенно большой налет ореховок в Западную Европу в 1885 г. был вызван «продолжительными в течение 4 лет недородами кедровых орехов в области распространения этих лесов».

В известной работе Формозова (1933) подмечается связь между урожаем кедровых орехов, налетами в Европу сибирской кедровки и колебаниями численности белки.

Миграции сибирской кедровки (*Nucifraga caryocatactes macrorhynchos* Brehm.) бесспорны и не подлежат сомнению. Не совсем ясно другое: почему сибирские кедровки в случае неурожая кедровых орехов залетают так далеко на запад, почему они не задерживаются в ельниках Западной Сибири, Урала и Восточной Европы? Ведь они появляются на Урале и западней его осенью, когда на елях еще не начинается осыпание семян.

Мне кажется возможным предположить, что большие налеты на запад бывают у ореховок (*Nucifraga caryocatactes*), экологически (а может быть, и исторически) сцепленных с елями (*Picea*) не меньше, чем с кедром (*Pinus cembra*), лишь в годы, когда совпадает неурожай семян кедра и елей в значительной части Сибири и Восточной Европы, а налеты ореховок в пустынную часть Средней Азии — в годы неурожая семян ели на Тянь-Шане.

Доказательством этого предположения являются отмеченные некоторыми наблюдателями перекочевки ореховок из кедровников в ельники в случае неурожая кедровых орехов. Так, по словам В. В. Дмитриева, в апреле 1935 г. множество ореховок (*Nucifraga caryocatactes macrorhynchos* Brehm.) замечалось в ельниках по р. Башкаузу (Алтайский заповедник), вероятно налетевших из кедровников, в которых в 1934 г. был неурожай семян.

Ореховки, налетевшие в ельники по р. Башкаузу, кормились, по словам В. В. Дмитриева, почти исключительно еловыми семенами.

Подтверждение этому можно найти в том, что в некоторые годы налеты ореховок (*Nucifraga caryocatactes*) совпадают с налетом клестов-еловиков (*Loxia curvirostra* L.) и белокрылых (*Loxia leucoptera bifasciata*). Не ставя целью дать сводку таких лет, я укажу лишь некоторые из них.

Летом 1860 г. (Бостанжогло, 1911) Карелин наблюдал стаю клестов-еловиков (*Loxia curvirostra* L.) в садах Гурьева и там же осенью

и зимой 1860/61 г.— большие стаи ореховок (*Nucifraga caryocatactes* L.).

В 1888 г. в Казанской губ. (Рузский, 1893) во множестве появились ореховки и клесты-еловики.

В 1909 г. наблюдался большой налет ореховок в Подолии и в этом же году на Украине и в Венгрии (J. Schenk, 1927—1928) был особенно большой налет клестов-еловиков.

Интересно, что в 1927 г. опять наблюдалось то же самое: на Украине и в Венгрии (J. Schenk, l. c.) был очень большой налет клестов (*Loxia curvirostra*); необычно много ореховок наблюдалось в Бельском (Федерако) и Дорогобужском уездах Смоленской губ., а на Башкирском Урале ореховки (*Nucifraga caryocatactes macrorhynchos*) появились прямо в несметном количестве.

В 1911 г. в Московской губ. (Поляков, 1924) и Лифляндии (B. Ottow, 1912) замечался сильный налет клестов, но не еловиков, а северных (*Loxia leucoptera bifasciata*), и, как известно, этот же год оказался замечательным в отношении одного из самых больших налетов ореховок в Европу.

На Сыр-Дарье налеты ореховок (*Nucifraga caryocatactes*) и клестов (*Loxia curvirostra*) опять-таки были замечены в одном и том же году (1909). Весьма вероятно, что туда спустились тянь-шаньские птицы (*Nucifraga caryocatactes rotschildi* Hart. и *Loxia curvirostra tianschanica* Laubm.).

Эти факты трудно объяснить случайным совпадением, и, по-моему, они очень ясно указывают на выдвинутое мной объяснение: большие налеты сибирской кедровки (*Nucifraga caryocatactes macrorhynchos* Brehm.) в Западную Европу и западные части нашей страны бывают лишь в годы совпадающего неурожая кедровых орехов и семян ели.

Налеты кедровки в безлесные и лишенные ели районы Средней Азии вызываются неурожаем еловых семян на Тянь-Шане.

Кафедра биологии промысловых млекопитающих и птиц Всесоюзного института пушного хозяйства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреев и Бианки, Ежегодник З. М. А. Н., т. XV, 1910.
2. Baker St., The Fauna of British India, Birds, v. I, 1922.
3. Березовский М. и Бианки В., Птицы Ганьсуйского путешествия, 1891.
4. Бостанжогло В. Н., Материалы к познанию фауны и флоры Росс. имп., XI, 1911.
5. Dementiev G. P., Systema avium rossicarum, 1935.
6. Зарудный Н. А., Орнитологическая фауна Оренбургского края, 1888.
7. Зарудный Н. А., Материалы к познанию фауны и флоры Росс. имп., т. III, 1897.
8. Зарудный Н. А., Орнитологический вестник, 1910.

9. Gengler und Kavelin, Ornithologische Jahrb., 1909.
10. Карамзин А. Н., Материалы к познанию фауны и флоры Росс. имп., т. V. 1901.
11. Kleinschmidt O., Corvus Nucifraga. Berajah, 1909—1910.
12. Кузнецов Н. Н., Землеведение, 1926.
13. Латкин В. Н., Записки Русского географического общества, 1853.
14. London Н., Ежегодник З. М. А. Н., 1909.
15. Миддендорф, Путешествие на север и восток Сибири, ч. II, отд. V, 1869.
16. Ottow B., Ornithologische Monatsberichte, 1911.
17. Поляков, Птицы Богородского уезда, 1924.
18. Reiser O., Über Verbreitung und Brutgeschäft des Tannenhehers in den nördlichen Balkanländern. Berajah, 1910.
19. Rikli M., Die Arve in der Schweiz. Neue Denkschriften der Schweizerischen Naturforsch. Gesellschaft, 1909.
20. Рузский М., Материалы к изучению птиц Казанской губ., 1893.
21. Сабанеев Л., Позвоночные Среднего Урала и географическое распространение их в Пермской и Оренбургской губ., 1874.
22. Словцов И. Я., Материалы к познанию фауны и флоры Росс. имп., 1892.
23. Словцов И. Я., Записки Западно-сибирского отделения ИРГО, 1892.
24. Станчинский В. В., Птицы Смоленской губ., 1927.
25. Сушкин П. П., Птицы Уфимской губ.
26. Tschusi V., Leben und Treiben des Tannenhehers. Berajah, 1909.
27. Тугаринов А. Я. и Бутурлин С. А., Записки Красноярского подотдела Русского географического общества, 1911.
28. Тугаринов А. Я., Орнитологический вестник, 1916.
29. Федченко, Путешествие в Туркестан, ч. II, Кокандское царство, 1875.
30. Федюшин А. В., Материалы к изучению птиц Восточной Белоруссии, 1928.
31. Формозов А. Н., Бюллетень Научно-исследовательского института зоологии Московского университета, 1933.
32. Формозов А. Н., Доклады Академии Наук, 1934.
33. Формозов А. Н., Наумов Н. П. и Кирис И. Д., Экология белки, 1934.
34. Schenk J., Die Invasion von Loxia curvirostra in Ungarn im Jahre 1927, Aquila. 1927—1928.
35. Шнитников В. Н., Доклады Академии Наук, 1932.
36. Шнитников В. Н., Животный мир Казакстана, ч. I—II, 1934—1935.
37. Штегман Б. К., Вороновые, 1932.
38. Элтон, Экология, 1934 (перевод Кашкарова).

S. W. KIRIKOW. ÜBER DIE ÖKOLOGISCHEN ZUSAMMENHÄNGE ZWISCHEN NUSSKNACKER (*NUCIFRAGA CARYOCATACTES* L.) UND TANNE (*PICEA*)

(Zur Frage über die Wechselbeziehungen zwischen höheren Pflanzen und höheren Tieren)

ZUSAMMENFASSUNG

Auf die engen Wechselbeziehungen zwischen höheren Pflanzen und Tieren wurde schon von Middendorf (1869) hingewiesen, welcher besonders eingehend bei dem Beispiele des Nussknackers (*Nucifraga caryocatactes* L.) und der sibirischen Zeder (*Pinus cambra sibirica*) verweilt.

Elton (1934) führt den Nussknacker (*Nucifraga caryocatactes* L.) als Beispiel für ein Tier an, das ausschliesslich mit der gegebenen Gemeinschaft verbunden ist. Jedoch ist in Wirklichkeit dieser Zusammenhang weder einzig noch ausschliesslich, sondern besteht auch nicht weniger eng zwischen Nussknacker und Tanne (*Picea*).

Der Autor weist auf die direkte Abhängigkeit der Verbreitung der *Nucifraga caryocatactes rotschildi* Hart. von dem Samenertrag der *Picea schrenkiana* in den Tannenwäldern Narintaus (Zentral-Tjanschan) hin, die ausschliesslich durch die Bedeutung der Tannensamen für die Ernährung der *Nucifraga caryocatactes rotschildi* Hart. zu erklären ist.

Die Behauptung von Rikli (1909), dass die morphologischen Unterschiede des europäischen (*Nucifraga caryocatactes*) und des sibirischen (*Nucifraga caryocatactes macrorhynchos* Brehm.) Nussknackers, die in verschiedener Länge und Dicke des Schnabels bestehen, der Nusschalendicke der europäischen und sibirischen Zeder entsprechen, trifft nicht zu.

Was die Verbreitung der *Nucifraga caryocatactes* anbetrifft, so ist darauf hinzuweisen, dass das Gebiet des europäischen Nussknackers (*Nucifraga caryocatactes*) bei weitem grösser ist als das Gebiet der europäischen Zeder (*Pinus cembra*), und viel genauer mit dem Gebiet der Tanne zusammenfällt (*Picea excelsa, Picea omorica* und z. T. *Picea obovata*); das Gebiet der *Nucifraga caryocatactes rotschildi* fällt genau mit dem Gebiet der Tanne, die in Mittelasien (hauptsächlich *Picea schrenkiana*) wächst, zusammen, sowie auch das Gebiet der zentralasiatischen *Nucifraga caryocatactes hemispila* und *Nucifraga caryocatactes multipunctata* stimmt mit dem Gebiet der zentralasiatischen Tanne (vorzugsweise *Picea morinda*) überein.

Seine Beobachtung und die Literaturhinweise über die Verbreitung, Wohnstätten und Ernährungseigentümlichkeiten zusammenfassend, kommt der Autor zu dem Schluss, dass man diesen Vogel mit Recht als «Tannen- oder Zedernvogel» bezeichnen kann.

Diesen beiden Gewächsarten (*Picea* und *Pinus cambra*) ist eine periodische Fruchtzeit eigen, und ebenso periodisch nomadisieren und wandern die sich mit deren Samen ernährenden *Nucifraga caryocatactes* im Falle eines Fruchtausfalls.

Die Wanderungen des sibirischen Zedernvogels (*Nucifraga caryocatactes macrorhynchos*) unterliegen keinem Zweifel, aber den Samenausfall der sibirischen Zeder hält der Autor für einen unzureichenden Grund für die Massenflüge dieses Vogels nach Europa, insofern sie in solchen Jahren im Ural und in seinem westlichen Teil gegen Ende des Sommers und Herbstanfang (August, September) auftreten, wo die Tannen ihren Samen noch nicht abwerfen.

Der Autor hält es für wahrscheinlich, dass die grössen Flüge des sibirischen Zedernvogels nach Westeuropa nur in den Jahren vorkommen, wenn der Samenausfall der Zeder und Tanne in einem beträchtlichen Teil Sibiriens und Osteuropas zusammenfällt und die Flüge des Nussknackers (*Nucifraga caryocatactes rotschildi*) in die Wüstengegenden Mittelasiens in die Jahren des Samenausfalls der Tanne in Tjanschan fallen.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

А. В. МАРТЫНОВ

О НЕКОТОРЫХ НОВЫХ МАТЕРИАЛАХ ЧЛЕНИСТОНОГИХ ЖИВОТНЫХ ИЗ КУЗНЕЦКОГО БАССЕЙНА

(*Представлено академиком* **А. А. Борисяком**)

Автор дает подробное описание коллекции отпечатков насекомых, собранных летом 1935 г. 1) в районе Бабьего Камня, в среднем течении р. Томи, и 2) в выемке железной дороги у дер. Завьяловой (алыкаевские горизонты). Во втором местонахождении отпечатки принадлежат группе тараканов. В первом местонахождении представлены жуки и древние прямокрылые, из насекомых, а кроме того, многоножки и ракообразные. На основании изучения этих материалов, особенно же остатка жука, возраст отложений Бабьего Камня определен автором как верхне-триасовый. Многоножка описывается для СССР впервые.

Осенью 1935 г. М. Ф. Нейбург прислала мне несколько образцов с отпечатками насекомых и других членистоногих, собранных ею летом 1935 г. 1) в районе Бабьего Камня, в среднем течении реки Томи, и 2) в выемке железной дороги у дер. Завьяловой (алыкаевские горизонты).

Препровождая мне названные остатки, М. Ф. Нейбург предложила мне также высказать свои соображения о возрасте соответствующих отложений, откуда были добыты отпечатки.

Что касается остатка насекомого, найденного у дер. Завьяловой то из этих горизонтов (свита I_2 Нейбург, алыкаевские горизонты) мною уже были описаны некоторые насекомые (1) и сделаны соответствующие выводы, которые я могу теперь лишь подтвердить. Гораздо труднее ответить на вопрос о возрасте остатков насекомых (и одной многоножки) с Бабьего Камня. Эти остатки говорят уже не о перми, а о более молодых отложениях, но нельзя их причислить и к юре, уже известной из Кузнецкого бассейна. Двух остатков насекомых слишком мало для вполне точного определения возраста, тем не менее они все-таки дают нам на этот счет достаточно определенные указания.

Приступая к описанию полученных образцов с отпечатками, приношу М. Ф. Нейбург свою искреннюю благодарность.

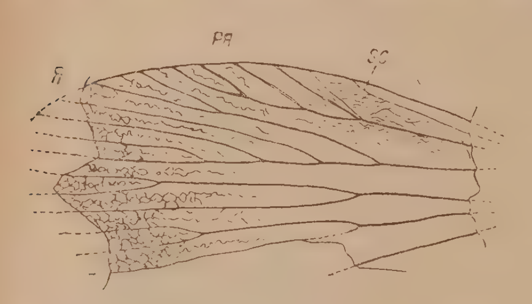
1. Остатки насекомого из железнодорожной выемки у дер. Завьяловой

Отряд *Blattodea* — тараканы

Сем. *Archimylacridae* gen. sp. (фиг. 1)

Экземпляр представляет собой отпечаток части заднего крыла и снабжен этикеткой «Выемка по скальной жел. дор. у дер. Завьяловой, алыкаевские горизонты свиты I_2 М. Нейбург».

Субкоста простая; прерадиус (PR) образует за субкостой четыре ветви; радиус (R) делится немного раньше него и образует спереди четыре косых ветви, из которых только первая кончается развилком; продолжение R идет наружу в виде простой ветви. Медиана рано делится на две главных ветви, которые в свою очередь делятся на одном уровне, образуя четыре ветви; из них первая и третья дают позже по развилку. CuA почти не сохранился. Между дистальными частями жилок довольно хорошо видны остатки сети, образующие зигзагообразные промежуточные жилки.



Фиг. 1. ***Archimylacridae*** **gen. sp. Часть заднего крыла**

Длина отпечатка 13 мм, общая длина должна быть 19—20 мм. Это крыло должно быть отнесено, по моему мнению, к сем. *Archimylacridae.* Судя по небольшому числу ветвей на радиусе (4) и по размерам, это — довольно примитивный тип крыла, и напоминает он больше всего некоторые задние крылья *Archimylacridae* из верхнекаменноугольных отложений, следовательно, отпечаток дает в общем те же указания о возрасте свиты I, как и ранее описанные формы (самые верхние горизонты карбона).

Я считаю излишним давать особые видовые названия задним крыльям тараканов, так как по одним задним крыльям мы не можем указать не только вида, но обычно даже и рода. Описанная форма, конечно, представляет собой новый вид.

С правого берега р. Томи, со склона долины р. Кедровки, канава № 8, добыт (Т. С. Бовиной) один экземпляр, также отнесенный М. Ф. Нейбург к верхним горизонтам свиты I (балахонской). Экземпляр представляет собой фрагмент, на котором видно несколько неправильных жилок, не дающих полной уверенности даже в том, что это остаток насекомого. Считаю излишним давать его описание.

2. Членистоногие из отложений Бабьего Камня

Здесь добыты отпечатки крыльев двух видов насекомых, а также остатки многоножки и, повидимому, какого-то ракообразного.

Insecta — насекомые

Отряд *Coleoptera* — жуки

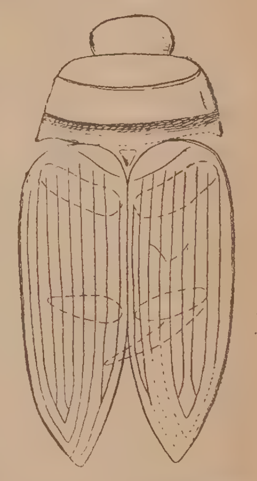
Сем. *Permosynidae* Till

Род *Ademosynoides* Dunstan, 1924

Ademosynoides asiaticus n. sp. (фиг. 2)

Местонахождение: правый берег р. Томи, ниже дер. Георгиевки (Бабий Камень), ниже речки Сосновки. Лето 1935 г., М. Нейбург (№ 4)

Экземпляр представляет собой положительный отпечаток надкрыльев, переднеспинки и части головы жука, причем в значительной части отпечатка сохранилось и вещество надкрыльев; небольшие изъяны находятся посреди надкрыльев, в задней части правого надкрылья и на правой стороне переднеспинки. Сохранность полос на элитрах хорошая; просвечивают средние и задние ляжки (coxae); основные части элитр, прилегающие к спинке, вдавлены.



Фиг. 2. *Ademosynoides asiaticus* n. sp. Общий вид отпечатка с надкрыльями, переднегрудью и следами головы

Описание. Переднеспинка (pronotum) большая, широкая, поперечная, кзади расширяется; задненаружные углы слегка оттянуты (видно на левой стороне); задняя область переднеспинки несколько вдавлена, но это, вероятно, случайное, искусственное явление. В передней части переднеспинки проходит нечто вроде поперечного шва, имеющего вид тонкой, изогнутой назад бороздки.

Голова значительно уже переднеспинки, поперечноовальная (форма ее не совсем ясна).

Надкрылья. При захоронении жук был, видимо, несколько сплющен сверху, почему надкрылья в дистальной половине расходятся; форма их удлиненная, апикальные отделы треугольные, наружные (передние) края слабо выпуклые; плечевой угол закругленный, прищитковый край короткий; надкрылья были, видимо, явственно выпуклые. Сутуральная каемка очень узкая, наружная (передняя) также узкая, но чуть шире, особенно ближе к плечевому углу. По каждому надкрылью проходит девять ясных тонких бороздок, становящихся неясными лишь в основной части элитр; бороздки простые, без углубленных точек (striae impunctatae, по терминологии Dunstan'a), 2-я и 3-я бороздки, считая от наружного края, на конце соединяются. 4-я и 5-я к концу также сближаются, 6-я и 7-я бороздки идут к задненаружному краю, как и общая бороздка, образующаяся в результате слияния 8-й и 9-й. Бороздки очерчивают гладкие про-

дольные поля (costae Dunstan'a), на которых кое-где замечаются слабые неровности, но еще не бугры.

Щиток (mesoscutellum) небольшой, щитковые края треугольно охватывают его.

Окраска черно-бурая, кое-где еще блестящая.

Размеры. Общая длина жука, включая голову и элитры, 4.4 мм; длина элитр 3 мм, длина переднеспинки 1.4 мм, ширина обоих надкрыльев вместе 2.25 мм.

Описанные надкрылья очень похожи на надкрылья видов родов *Ademosynoides* Dunstan и *Ademosyne* Handl. из верхнего триаса Австралии. Наш вид должен быть отнесен к роду *Ademosynoides* Dunstan, так как все девять бороздок его гладкие, без точек, а у *Ademosyne* они с точками.

По характеру бороздок и по форме элитр наш вид походит на большинство видов *Ademosynoides*, по длине элитр сходясь с *A. angusta* Till. (длина 3 мм) и с *A. striatella* Dunstan (длина 2.8 мм). Длина элитр у близкого рода *Ademosyne* Handl. колеблется в пределах от 2 до 4.5 мм, и только у двух видов, *A. adunca* Dunst. и *A. cameranoi* Till., она достигает 6 мм.

Таким образом по строению и длине элитр наш вид вполне укладывается в рамки рода *Ademosynoides* и ничем существенным не отличается от большинства верхне-триасовых видов Австралии.

У *Ademosynoides asiaticus* n. sp., кроме надкрыльев, сохранилась также переднеспинка и голова. Переднеспинка сохранилась еще у *Ademosyne major* Handl. и изображена Handlirsch'ем на фиг. 14, табл. 39 его монографии «Die Fossilen Insekten etc.», 1908 г. Мы видим, что и здесь задние наружные углы переднеспинки слегка оттянуты; сама переднеспинка суживается кпереди здесь быстрее, чем у нашего вида, но это обстоятельство, быть может, следует объяснить худшей сохранностью переднеспинки у *A. major*; голова здесь вовсе не сохранилась (судя по рисунку).

Весьма интересным является присутствие в передней части pronotum особой поперечной бороздки или шва; бороздка эта довольно явственная, почему трудно считать ее искусственным образованием.

Большое сходство описанной формы с верхне-триасовыми видами Австралии должно быть отмечено; оно определенно свидетельствует о том, что возраст отложений Бабьего Камня должен быть более или менее близким к верхне-триасовому.

Ниже мы еще вернемся к вопросу о возрасте.

Отряд *Protorthoptera* — древние прямокрылые

Сем. *Tomiidae* n. fam.

SC короткая, в передних крыльях впадающая в радиус около середины длины крыла, а в задних крыльях в косту. Как SC, так

и продолжение R за концом SC связаны с костой правильным рядом сильных косых поперечных жилок. RS рано отходит от R и далее делится на две ветви; M делится позже на две ветви, вскоре же вновь делящихся. CuA состоит только из двух простых ветвей; A_1 простая, A_2 образует несколько ветвей. Продольные жилки соединяются поперечными, неправильными в области между R и RS.

Род *Tomia* n. gen.

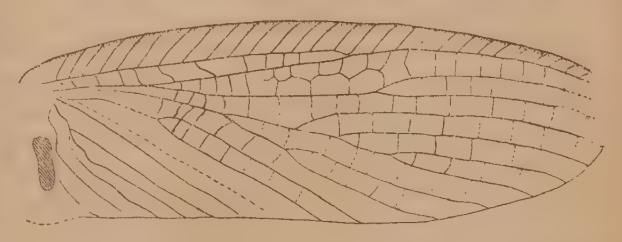
SC едва длиннее половины крыла и на конце впадает в R; RS отдаляется от R, а затем делится на две параллельные ветви. M делится позже, чем R, причем передняя ветвь ее последовательно дает спереди еще три ветви, а задняя образует только две ветви. CuA делится на две ветви почти на одном уровне с началом RS; A_1 простая, A_2 дает 3—4 ветви. Продольные жилки связаны поперечными; между R и RS видны зачатки образования промежуточной жилки.

В задних крыльях SC впадает в косту. Тип рода — *Tomia costalis*, n. sp. из Бабьего Камня Кузбасса.

Tomia costalis n. sp. (фиг. 3)

Местонахождение то же, что у только что описанного жука *Ademosynoides asiaticus* n. sp., но добыт образец из слоя, лежащего немного ниже того, из которого извлечен названный жук.

Образец представляет собою отпечаток насекомого сверху, со сложенными на спине крыльями, но сохранились только крылья.



Фиг. 3. *Tomia costalis* n. gen. n. sp. Переднее крыло

Жилки накладываются и пересекают друг друга, тем не менее расположение их удалось разобрать на одном переднем крыле (фиг. 3). От заднего крыла сохранился тут же рядом небольшой фрагмент передней части, изображенный на фиг. 3а.

Описание. Переднее крыло удлиненное, к концу суженное, с выпуклым передним краем. Коста сильная, черная, прилегающая часть костального поля также темная, бурая. От SC отходит к косте 15—16, от дистальной части R 13—14 косых поперечных жилок, которые в апикальной части крыла становятся короткими, вследствие сближения R с слегка загибающимся назад костальным краем. RS отходит от R рано и отдаляется от него, так что между этими жилками образуется довольно широкое поле, в котором наме-

чается неправильная, короткая промежуточная жилка. За концом субкосты RS делится на две ветви, направляющихся наружу параллельно ветвям медианы. Обе ветви медианы вскоре делятся на одном уровне, причем передняя образует всего четыре, а задняя только две длинных ветви. CuA рано делится на две длинных, сильных простых ветви; CuP не сохранилась; A_1 простая, A_2 образует до четырех ветвей. Продольные жилки связаны поперечными; в субкостальном поле некоторые из них имеют косое, но обратное направление, с поперечными ветвями между SC и C; между R и RS на коротком участке расположены не один, а два ряда неправильных ячей; поперечные между начальными частями RS, CuA и M расположены близко друг к другу. Окраска крыла буроватая, спереди бурая.



Фиг. 3а. Фрагмент заднего крыла того же вида

Длина отпечатка 15 мм, общая длина крыла должна быть немного больше: 15.5—15.7 мм.

Заднее крыло: SC впадает в костальный край; поле между C и SC узкое; косые поперечные жилки между SC и C и между R и C есть, но короче и расположены реже. Поле между R и RS широко в средней части; промежуточной жилки между ними нет.

Описанный род своеобразен и обнаруживает различные отношения.

Жилкованием передних крыльев он несколько напоминает *Palaeocixius antiquus* Brongn. из верхнего карбона Франции, но субкоста здесь впадает в R много позже, а передняя ветвь CuA дает на конце еще несколько ветвей. Последние, впрочем, редуцируются у соседнего рода *Fabrecia* Meun. также из формации Комментри. С другой стороны, есть сходство с родом *Narkemina* Mart. из верхов карбона Кузбасса, только здесь RS дает целый ряд ветвей наружу, а между M и CuA сформировалась особая косая жилка. Наконец, в характере CuA и в существовании ряда сильных поперечных жилок между SC и C есть сходство с *Protoperlaria*, особенно с родом *Kazanella* Mart.[1], но этот и другие роды *Protoperlaria* отличаются от *Tomia*

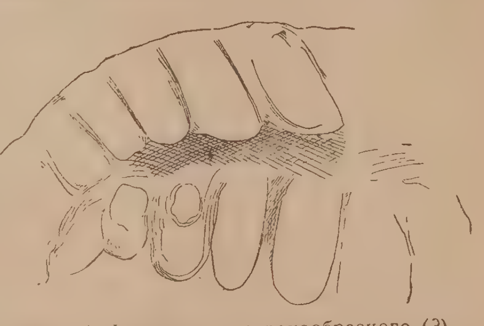
---

[1] В настоящее время, как об этом подробнее я говорю в другой работе, посвященной лиасовым насекомым (печатается в Трудах Сектора палеозоологии ИЭМП АН, 1937), я пришел к заключению о необходимости разделения отряда *Miomoptera* на два отряда — на *Protoperlaria* Till. и *Miomoptera* s. str. Типичным семейством *Miomoptera* является сем. *Palaeomantidae* (со включением сюда и *Delopteridae*).

В отряд *Protoperlaria* я включаю, как и раньше, не только сем. *Lemmatophoridae*, но также и *Atactophlebiidae*. Я никак не могу согласиться с Carpenter'ом, ограничивающим отряд *Protoperlaria* одним только сем. *Lemmatophoridae* и исключающим из него не только *Atactophlebiidae*, но даже род *Kazanella* Mart.

Жилкование передних крыльев у *Kazanella* построено по тому же типу, как

м, что M делится у них раньше начала RS; кроме того, субкоста у их длинная и CuA_1 образует ветви. К *Protoperlaria* отнести этот од невозможно, а потому мы оставляем его в той обширной группе *rotorthoptera,* которой мы в свое время присвоили название *Pa-plecoptera,* сохраняя название *Protorthoptera* s. str. за *Oedischiidae* другими семействами прыгающих палеозойских прямокрылых. Мы клонны теперь придавать этим группам значение отрядов, причем сновным и более обширным отрядом будут, конечно, *Paraplecoptera*. *rotorthopteta* (или *Protorthoptera Saltatoria*) по существу предста-ляют собой лишь некоторый отпрыск многообразного отряда *Pa-plecoptera,* типичным семейством которого мы считаем сем. *Spa-ioderidae*. Сюда относится целый ряд карбоновых и пермских се-ейств непрыгающих прямокрылых. Сюда же относится и упомяну-ое выше сем. *Palaeocixiidae* Iandl. (роды *Fabrecia, Palaeo-ixius,* а также сем. *Narke-idae* и пермское сем. *Campto-eurititidae* Mart. Эти семей-тва, особенно же сем. *Campto-eurititidae,* уже во многом апоминают и предвосхищают ип *Plecoptera*. *Protoperlaria* вляются, по моему мнению, ишь рано расцветшей, а за-ем совершенно угасшей бо-овой ветвью *Plecoptera*. Из этого комплекса вышло и верхне-камен-оугольное сем. *Narkemidae,* из которого уже описан для Кузбасса од *Narkemina* Mart., приобревший параллельно с родом *Tomia* n. gen. яд сходных черт в передних крыльях.



Фиг. 4. Фрагмент тела ракообразного (?).

Crustacea — ракообразные? (фиг. 4)

Образец найден там же, где и № 2, т. е. только что описанное прямокрылое.

Два отпечатка одного и того же фрагмента какого-то членисто-ногого (фиг. 4). Сохранность отпечатков очень неясная, плохая. На отпечатках можно разобрать (с трудом) до четырех сегментов, раз-деленных на спинную и брюшную половины; брюшные части первых

Lemmatophoridae, и единственным сколько-нибудь существенным отличием первого рода является характер костального поля и его поперечных жилок. Если и можно отделять род *Kazanella* как-нибудь дальше, то не более, как в особое семейство, чего я в своей работе 1930 г. («Известия Академии Наук», 1930, стр. 1115 - 1119) не делал вследствие недостаточности своего материала. К тому же отряду *Proto-perlaria* я отношу теперь и сем. *Geinitziidae* Handl. с некоторыми новыми формами из нижнего лиаса Туркестана. Характером костального тела эти формы очень напоминают род *Kazanella*.

двух сегментов более ясны, закруглены на конце. Длина отпечат 12 мм.

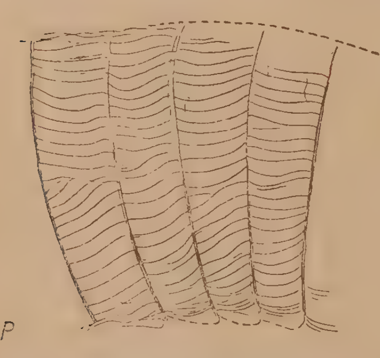
По всем видимостям эти фрагменты принадлежат ракообразно и, скорее всего, какому-то представителю отряда *Syncarida*.

Diplopoda — **многоножки**

Сем. *Proiulidae* Fritsch.

Род *Tomiulus* n. gen.

Плевриты на сегментах есть, но очень узкие и не отграниченн ясно от остальной части; нижние края их выпуклы вниз, утолщен и несколько выдаются наружу. Продольные бороздки (flustra) очен ясные и проходят поперек через весь сегмент, захватывая и пр тергиты, где они становятся менее ясными; протергиты на отпеча ках имеют вид более гладких узк полос в передней части сегменто Размеры приблизительно как у с временных *Iulidae*.



Фиг. 5. *Tomiulus angulatus* n. gen. n. sp. Общий вид четырех сегментов тела

Тип рода *Tomiulus angulatus* n. s из отложений Бабьего Камня в Ку бассе.

Tomiulus angulatus n. sp. (фиг. 5 и 6

Местонахождение: Бабий Камен ниже дер. Георгиевки. Лето 1935 г Бовина (№ 1).

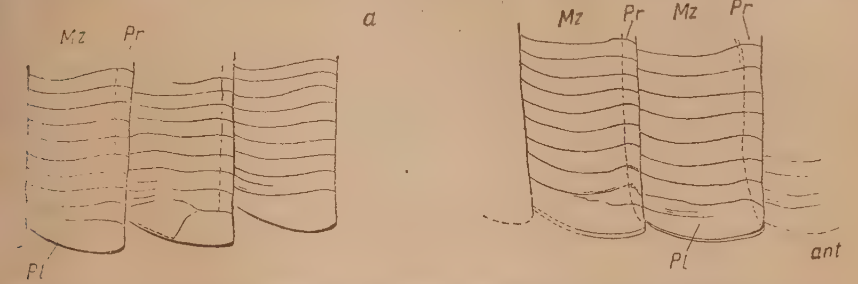
Относящиеся сюда три отпечатк добыты в районе Бабьего Камня, н ниже по разрезу, чем две предыдущих формы. Отпечатки принад лежат двум особям (фиг. 5); b и c представляют собой отпечатк одной особи, a — другой, более мелкой.

На экземплярах b и c сохранились отпечатки около 17 сегмен тов тела, без головы; на одном экземпляре (b) первые 9 сегменто видны снаружи, а следующие дают вид внутренней части лево стороны; на экземпляре c имеем обратное расположение; скульп тура сохранилась хорошо.

Отпечатки b и c (фиг. 5a, 5b)

Длина сохранившейся части 14 мм. Максимальная высота сегментов около 4.5 мм. Сегменты отличаются очень ясной продольной бороздчатостью (striation, flustra), причем бороздки проходят от заднего края сегмента до переднего, захватывая и протергиты (pr.), где они загибаются немного вниз и становятся не столь ясными. Протергиты узкие, на отпечатках в виде более гладких, вдавлен-

ых полос. Плевриты явственные, хотя очень узкие и не обособленые ясно от остальной части. Нижние края плевритов утолщены, эти утолщения слегка отогнуты наружу так, что снаружи имеют ид утолщенных полосок, а внутри — соответствующих углубле-

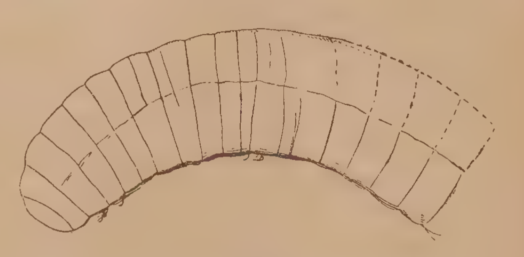


Фиг. 5a (слева) и 5b (справа). *Tomiulus angulatus.* n. g. n. sp.; экз. b и c. Нижняя часть сегментов снаружи (a) и трех внутри, при большем увеличении (b), Mz — метатергит, Pr — протергит, Pl — плевриты, ant — передний, ps — задний конец

ий или бороздок, выпуклых вниз; передние углы плевритов явственые, почти прямые, не закругленные. Стигм не видно.

Экземпляр a (фиг. 6)

Многоножка отпечатка a меньше, тоньше, но, судя по структуре оверхности, относится к тому же виду. Сохранилась, повидимому, адняя часть многоножки, одержащая около 19 сегментов. Отпечаток дает вид внутренней стороны. Плевр не видно, но видны кое-где неясные остатки ножек. Высота сегментов 2.5 мм. Вдоль сегментов видны явственные тонкие бороздки, проходящие, как у предыдущего экземпляра, через весь сегмент от переднего до заднего края, что и сближает эту форму с предыдущей.



Фиг. 6. *Tomiulus angulatus* n. g. n. sp. (?). Общий вид задней части многоножки экземпляра a (отпечаток внутренней стороны)

Неудовлетворительная сохранность этого экземпляра не позволяет нам относить его к тому же виду с полной уверенностью. За принадлежность к этому виду говорит как сходство бороздок, так и то, что все эти отпечатки найдены вместе.

Описанная форма, несмотря на ее весьма недостаточную сохранность, представляет для нас очень значительный интерес как потому, что это — первая ископаемая многоножка из пределов СССР, так и по ее систематическому положению.

Представители сем. *Proiulidae* до сих пор были известны только из палеозойских (каменноугольных) отложений, почему нахождение новой формы его в триасе следует отметить. Многоножка эта по всему своему habitus'у и по размерам очень напоминает современных и третичных *Iulidae*, но не может быть отнесена к этому семейству главным образом потому, что мы находим у нее хотя и узкие, но все же явственные плевриты, что характерно для большинства *Proiulidae*. Присутствие хорошо выраженных продольных бороздок, проходящих и по протергитам, представляется мне характерным для рода *Tomiulus* n. gen.

К сожалению, сохранность описанной многоножки очень недостаточная, и находки новых экземпляров были бы очень желательны. Возможно, что здесь мы имеем дело с особым новым семейством.

3. О возрасте насекомоносных отложений Бабьего Камня

Выше мы уже говорили о вероятности того, что те слои, откуда были извлечены отпечатки жука и прямокрылого, а с ними и растений, имеют верхне-триасовый возраст.

Такой жук, как *Ademosynoides asiaticus*, мог бы оказаться и в нижне-лиасовых отложениях, но нахождение почти вместе с ним (очень немного ниже) представителя нового семейства *Protorthoptera*, которые характерны вообще для палеозоя, заставляет, при прочих равных условиях, возраст этих слоев повышать, а не понижать, почему и принадлежность их к триасу, а не к лиасу, становится более вероятной. Несколько ниже найдена и многоножка, во всяком случае родственная палеозойскому семейству.

Все это склоняет меня к признанию за соответствующими отложениями Бабьего Камня триасового, вероятнее всего верхне-триасового возраста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мартынов А., О палеозойских насекомых Кузнецкого бассейна, Известия Главного геолого-разведочного управления, т. XLIX, № 10, 1930.
2. Martynov A., Permian Fossif Insects from Tikhije Gory. Order Miomoptera. Bull. Acad. Sei. USSR, p. 951—975, 1930.
3. Мартынов А., Лиасовые насекомые Шураба и Кизил-Кии, Труды Сектора палеозоологии ИЭМП, 1937. (В печати.)
4. Carpenter Fr., The Lower Permian Insects of Kansas. Part. 7. The order Protoperlaria. Proceed. Amer. Acad. of Arts and Sciences, vol. 70, № 4, 1935.

A. V. MARTYNOV. ON SOME NEW MATERIALS OF ARTHROPODA FROM KUZNETSK-BASIN

SUMMARY

The material under description is recorded in 1935 by M. Neuburg: 1) near the village Savjalova (Uppermost Carboniferous) and 2) in the locality Babij Kamenj,— middle course of the river Tomj.

1. Remains of an insect recorded near the vill. Savjalova

Archimylacridae gen. sp. (fig. 1)

One specimen, represented by an impression of the anterior portion f a hind wing.

Series I_2 (of Neuburg, or Balochonian). *SC* simple; *PR* (praeradius) orming four branches behind the end of *SC*; *R* forming anteriorly but our branches, the first of which is forked. *M* early divided into two nain branches, furcating again at same level. Intermediate veins zigzag-haped, more distinct in the distal part of the wing.

Length of impression 13 mm; total length of the wing should be bout 19—20 mm.

This wing belongs to the fam. *Archimylacridae* and shows a more or less archaic character.

It is useless to name this form by but a fragment of hind wing.

2. Arthropoda from the locality Babij Kamenj

In this locality are recorded remains of two insects, one Myriapod and one doubtful remain, belonging, probably, to Crustacea.

1. Fam. *Permosynidae* Dunstan, 1924 (*Coleoptera*).

Ademosynoides asiaticus n. sp. (fig. 2)

Right shore of river Tomj (Babij Kamenj, 1935, No. 4).

The specimen represents positive impression of an almost whole beetle.

Pronotum large, narrowing forwards, with hind outer angles somewhat extended; in the anterior portion there is a transverse ridge; head much narrower than the pronotum.

Elytra elongated, apices triangular, bases rounded; sutural margins very narrow, lateral margins somewhat broader. One may discern on each elytron 9 distinct slender ridges without any dots or dotty pits; 2nd and 3rd outer ridges united at ends; 4th and 5th ridges also united at ends; 6th, 7th and common ridge of the 8th and 9th striae running to the outer side of the apex; longitudinal areas between the ridges smooth. Colouring dark brown, somewhere shining.

Length of the beetle with elytra 3.4 mm, length of elytra 3 mm, breadth 3 mm; length of pronotum 1.4 mm.

I refer this form to the genus *Ademosynoides* Dunstan on the base of its elytra, which bear 9 smooth ridges (striae impunctatae). Elytra of *Ademosynoides asiaticus* n. sp. resemble closely those in many species of *Ademosynoides* Dunst. and of *Ademosyne* Handl., size of elytra is also similar to that in many species of these genera (in *Ademosynoides angusta* Till. the length of elytra is about 3 mm; in

A. striatella Dunst.—2.8 mm; in many species of *Ademosyne*, from 2 to 4.5 mm).

Since the genera *Ademosyne* and *Ademosynoides* are known but from the Upper Triassic of Australia, it becomes probable, that the age of the deposits at Babij Kamenj is also Triassic and, probably. Upper Triassic.

2. Fam. *Tommiidae* n. Fam. (*Protorthoptera*).

In anterior wings *SC* short, ending on *R* near its middle. From both *SC* and distal part of *R* arises regular series of distinct oblique cross-veins. *RS* deriving early and then dividing but into two veins; *M* dividing later, than *R* and forming several branches, *CuA* forming but two simple branches; A_1 simple, A_2 forming about 4 branches. Longitudinal veins connected with series of cross-veins, which are irregular between *R* and *RS*.

Tomia n. gen.

SC ending on *R* at the middle of this vein; *RS* deviating from *R*, then dividing into two parallel branches. Anterior main branch of *M* forming four, the posterior but two branches; *CuA* divides at same level with *R*; A_2 forming 3—4 branches.

In the posterior wings *SC* is also short, ending on costa.

Genotype — *Tomia costalis* n. sp. from Babij Kamenj.

Tomia costalis n. sp. (fig. 3)

Locality, as of the foregoing species.

The specimen represents the impression of an insect from the dorsum. its wings being put one upon another; venation may be discerned on the forewing. Hind wing represented but with a small fragment.

Anterior wing elongated with convex costal margin; costa black, distinct, costal cross-veins also distinct; area between *R* and *RS* broad, with a short irregular intermediate vein in its middle; branches of *RS* and *M* directed outwards, parallel; branches of *CuA* simple, straight; A_1 straight, A_2 with 4 branches. Colouring brown. Length of impression 15 mm, total length of the wing should be about 15.5—15.7 mm. In posterior wings *SC* is also short, ending on *C*; areas between *C* and *SC* and then between *C* and *R* narrow, also with series of oblique cross-veins. Area between *R* and *RS* also dilated in the middle, but intermediate vein is here absent.

The just described genus reminds partly of *Paleocixiidae* Handl. and even of some *Protoperlaria* [1] of the gen. *Kazanella* Mart., in

---

[1] I divide now the order *Miomoptera* into two orders: *Protoperlaria* Till. and *Miomoptera* s. str. The order *Protoperlaria* contains, according to my opinion, *Lemmatophoridae* Till., *Atactophlebiidae* Mart. and *Geinitziidae* Handl. The gen. *Kazanella* Mart. represents, perhaps, a distinct family, but judging by wings, it cannot be excluded from the order *Protoperlaria* (as Carpenter does). I discuss these questions more thoroughly in another paper.

particular, but stands nearer to the *Protorthoptera*. Therefore I include it into that rich stem of these insects, which I named earlier *Paraplecoptera* [*Spanioderidae*, *Paleocixiidae* and many other non saltatorian families).

Protorthoptera s. str. or *Protorthoptera-Saltatoria* (*Quedischiidae*, *Stenaropodidae*) represent but one of many branches of primitive *Paraplecoptera*, but these branches became more adaptive and more happy in the subsequent periods, than any offshoots of *Paraplecoptera*.

3. *Crustacea* gen. sp. (fig. 4)

Same locality, as of the foregoing specimen (Babij Kamenj, No. 3).

Two impressions of same fragment; preservation very poor. Judging by the shape of two segments, they belong to *Crustacea* (*Syncarida*?). Length of impression 12 mm.

Diplopoda
4. Fam. *Proiulidae*
Gen. *Tomiulus* n. gen.

Resembling *Julidae*, but pleurites present, although narrow and but indistinctly separated from the remaining parts of segment; their lower margins thickened. Longitudinal striae or ridges (flustra) distinct and may be well perceived even in protergites, where they are curved somewhat downwards.

Genotype *Tomiulus angulatus* n. sp. from the deposits of Babij Kamenj.

Tomiulus angulatus n. sp. (fig. 5 and 6)

Same locality: Babij Kamenj, 1935.

Specimen *C* is the reverse impression of the specimen *b*; specimen *a* belongs to another individual.

On the specimens *b* and *C* one may discern about 17 segments; height of segments 4.5 mm. Longitudinal striae distinct, but in protergits they are not as distinct and curved somewhat downwards; protergites more smooth, externally. Pleurites distinct and thickened on their lower margins, which are convex downwards and ending anteriorly with obtuse angles.

Specimen *a* belongs to another, smaller exemplar; height of segments is here 2.5 mm (fig. 6); preservation poorer; pleurites invisible, but longitudinal striae are similar to those in the foregoing specimen.

Although these specimens resemble recent *Julidae*, they cannot be included in this family, since they possess distinct pleurites, in what a feature they resemble closely the genera in the fam. *Proiulidae*.

Judging by the close resemblance of *Ademosynoides asiaticus* n. sp. to the Upper Triassic species of the genera *Ademosynoides* and *Ademosyne*, I believe the age of the deposits of Babij Kamenj to be Triassic and probably even Upper Triassic. It is true that the gen. *Tomia* n. gen. belongs to a Paleozoic order, but it represents a distinct family, and we cannot ascertain that such a family could not be represented in the Triassic.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences
...hématiques et naturelles

Отделение математических
и естественных наук

С. А. ГРАБЬЕ

К ПОЗНАНИЮ *OLIGOCHAETA* АРАЛЬСКОГО МОРЯ

(*Представлено академиком* **С. А. Зерновым**)

Изучая материал, собранный проф. А. Л. Бенингом, автор устанавливает систематику четырех видов малощетинных кольчатых червей Аральского моря из этих сборов и дает подробное описание нового вида *Paranais simplex* n. sp. и *Ilyodrilus bavaricus* Oschm.

Малощетинные кольчатые черви Аральского моря до сих пор почти не изучены. Мы не находим о них указаний ни в труде проф. Берга (1908), ни в работе Никитинского (1933), производившего количественное исследование донной фауны Аральского моря. Единственно Беклемишев (1922) указывает, что в Арале, кроме одного вида, который Ласточкину, обработавшему сборы, не удалось ближе определить, встречается *Paranais litoralis* Müll. и *Nais aralensis* n. sp.

Число видов, найденных в материале, собранном проф. А. Л. Бенингом во время рейсов 26 июля — 8 августа и 18 августа — 6 сентября 1932 г., гораздо значительнее, чем приводит Беклемишев. Я определил в этом материале следующие виды: *Paranais simplex* n. sp., *Nais elinguis* Müll., *Ilyodrilus bavaricus* Oschm., *Tubifex* [*Psammoryctes* (sp.) *albicola Mich.?*], *Limnodrilus helveticus* Pig., *Pachydrilus lineatus* Müll. (Л. Черносвитов, det.).

Вид *Paranais litoralis*, приводимый Беклемишевым, в Арале не встречается. Ласточкин имел дело с новым видом *Paranais simplex*, но определить его он точно не мог из-за отсутствия половозрелых особей. В изученных мною сборах встретилось значительное количество экземпляров с вполне развитым половым аппаратом.

Вид *Nais aralensis* (Ласточкин-Беклемишев) в моем материале не был обнаружен, и я полагаю, что он идентичен с *Nais elinguis* Müll., часто встречающимся в сборах проф. Бенинга (см. ниже).

Вид *Paranais simplex* n. sp. мне был известен уже раньше из притоков оз. Эльтон по сборам Ермакова[1].

[1] Ср. Ермаков, Крапін і Попова, Про деякі біоценози солоних річок озера Ельтон. Журн. біо-зоол. циклу ВУАН, № 3 (7), 1933, Київ.

Nais elinguis Müll. принадлежит к наиболее распространенным видам сем. *Naididae*. Этот вид является почти космополитом и часто был находим в солоноватой и морской воде с концентрацией солей до 27‰.

Среди представителей сем. *Tubificidae*, найденных в Аральском море, наиболее интересным является *Ilyodrilus bavaricus* Oschm., известный лишь[1] из пресного водоема в Мюнхене, и, кроме того, возможно, что он встречается в морской воде у Грейфсвальда, если будет подтверждена правильность указания Михаэльсена (1926). Находка *Limnodrilus helveticus* Pig. в Арале не является неожиданной, так как этот вид, известный из двух местонахождений в Швейцарии (Piguet, 1913), был мною встречен в сборах проф. Бенинга из оз. Чалкар (Грабье, 1929). *Tubifex* (*Psammoryctes*) представлен лишь в виде неполовозрелых экземпляров, и потому мне не удалось его вполне отождествить с *Tubifex* (*Psammoryctes*) *albicola* Mich. Небольшое количество неполовозрелых представителей подрода *Psammoryctes*, которых я причислил к виду *albicola* Mich., мною было найдено и в Чалкаре. *Pachydrilus lineatus* (Müll.) принадлежит к широко распространенным видам сем. *Enchytraeidae*. Он был найден и в воде с концентрацией солей до 34,5‰.

Из сказанного следует, что, хотя список *Oligochaeta*, обитающих в Аральском море, значительно увеличился на основании сборов проф. Бенинга и в материале встретился даже новый вид, а другая аннелида была известна до сих пор только из 1—2 местонахождений в Германии, — все же нужно признать, что фауна *Oligochaeta* Арала бедна и что не был найден ни один вид, который бы не был известен из других мест Евразии.

Отсутствие в Аральском море видов, встреченных Черносвитовым в Туркестане и мною в слабо солоноватоводном оз. Иссык-куль (Грабье, in. litt.), объясняется, повидимому, составом солей, растворенных в воде Арала. На это обстоятельство правильно обратил внимание Беклемишев. Изучение *Oligochaeta* Каспийского моря покажет, какую роль играют исторические причины.

В таблице приведено число проб, в которых были найдены представители отдельных видов *Oligochaeta*.

Общее число проб	*Paranais simplex* n. sp.	*Nais elinguis* Müll.	*Ilyodrilus bavaricus* Oschm.	*Tubifex* (*Psammoryctes*) sp.?	*Limnodrilus helveticus* Pig.	*Pachydrilus lineatus* Müll.
53	45	24	9	5	4	2
100%	84.7	45.3	17.0	9.4	7.5	3.8

[1] В оз. Чалкар мною были найдены неполовозрелые особи, которые, возможно, принадлежат к виду *Ilyodrilus bavaricus* Oschm. (Грабье, 1929).

Paranais simplex n. sp. и *Nais elinguis* Müll. были встречены наиболее часто. Из тубифицид, повидимому, в Арале наиболее распространен *Ilyodrilus bavaricus* Oschm.. *Limnodrilus helveticus* Pig. встретился лишь в 7.5% всех проб, в то время как в Чалкаре он был найден в 12 пробах из 22, т. е. в 54.5%.

Исключительно одни только особи *Paranais simplex* n. sp. встретились в 20 пробах (37.7%); 12 раз (22.6%), одновременно с *Nais elinguis* Müll., в 6 пробах был найден *Paranais* с тубифицидами (энхитрэидами) и в 5 пробах вместе с *Nais* и тубифицидами. Исключительно один *Nais elinguis* Müll. был в 6 образцах.

Ilyodrilus bavaricus Oschm. встретился без других тубифицид в 7 пробах, вместе с *Limnodrilus* или *Psammoryctes*, 4 раза. В сборах проф. Бенинга, таким образом, наиболее часто встретились пробы, содержащие лишь *Paranais simplex* n. sp., и затем пробы, содержащие *Paranais* вместе с *Nais elinguis*.

Число особей, пойманных дночерпателем Петерсена (малая модель в 0.1 м^2), в общем не особенно велико. В 30 пробах найдено 1—5 экземпляров, в 7 — 6—10, в 7 — 11—15, в 5 — 16—20 и в 4 — 21—38, что для площади в 1 м^2 дает соответственно увеличенные в 10 раз числа.

Что касается горизонтального распространения видов, обнаруженных в Аральском море, то в общем можно утверждать, что все они встречаются в различных частях этого озера на илистых и песчано-илистых грунтах, кроме только тех небольших по своим размерам участков, которые заражены сероводородом.

Вместе со сборами из Арала проф. Бенинг любезно мне предоставил несколько пробирок с материалом из озер, названия которых я привожу в следующей таблице с указанием видов, мною в них обнаруженных. Озера эти расположены в низовьи бессточной реки Сары-су, к востоку от гор. Кзыл-орда на Сыр-Дарье, в районе между 45°0′ и 45°15′ сев. широты и 66° и 67°45′ вост. долготы.

Название озера	Название видов
Карабай-куль	*Nais elinguis* Müll. *Ilyodrilus bavaricus* Oschm.
Кыркабай-куль	*Limnodrilus helveticus* Pig.
Каржун-куль	*Limnodrilus helveticus* Pig. *Ilyodrilus bavaricus* Oschm.
Чабакты-куль	*Stylaria lacustris* (L.) *Tubificidarum* g. sp. *Ilyodrilus bavaricus* Oschm.
Узунь-куль	*Paranais uncinata* (Oerst.) (1 неполовозрелая особь)

Наконец, в реке Сыр-Дарье у Чиназа был найден *Limnodrilus hoffmeisteri* Cl.

Систематическая часть

Сем. *Naididae*

Paranais simplex n. sp.

Аральское море, ст. III, VIII, XI, XII, XIV, XVII, XXIV, XXV, XXX, XXXI, XXXII, 1, 3, 4, 6b, 7a, 13, 15—23, 25, 31, 33—37, 40—42; Аральская гавань № 1, 2 — сборы А. Л. Бенинга в 1932 г. и № 18 (ст. 20) — сборы Никитинского.

Река Большая Сморогда (приток оз. Эльтон), ст. 1a, b, 2a, b, 3b, c, 4a, 5a, 7b, р. Хара-заха (приток оз. Эльтон), ст. 12a, b, c, 13b, 14a, c, 15c — сборы Ермакова в 1928 г.

Новый вид отличается от *Paranais litoralis* (Müll.), у которого спинные щетинки развиты также от V сегм., 1) по отсутствию измененных половых щетинок, описанных у *Paranais litoralis* Bourne'ом в V сегм., 2) по присутствию у *Paranais simplex* большего числа щетинок в передней части тела, чем у *Paranais litoralis*. Вполне возможно, что при дальнейшем изучении *Paranais litoralis* удастся найти дополнительные отличительные признаки между обоими видами, но в настоящее время мы располагаем, к сожалению, лишь очень неполными указаниями о строении этого вида.

Диагноз *Paranais simplex* n. sp.

Половозрелые особи состоят из 28—41 сегм., неполовозрелые в сборах Ермакова состоят иногда из 4 зооидов; число сегментов первого из них равняется 17—24. Длина половозрелых экземпляров — 4—4.5 мм, ширина в пояске в V сегм. — 0.32—0.44 мм. Головная лопасть короткая, на конце заостренная. Глаза отсутствуют.

Спинные щетинки развиты от V сегм. В V—VIII (— IX) сегментах по 4 щетинки в каждом пучке, в дальнейших по 3. В брюшных пучках во II сегм. по 5 (у половозрелых даже по 6), в III—V по 4, в остальных по 3 щетинки. У некоторых экземпляров 4 брюшные щетинки встречаются даже в IX сегм.

Брюшные щетинки во II—IV сегм. не длиннее и не тоньше, чем щетинки в следующих сегментах. Во II сегм. верхний зубец одинаковой длины с нижним, но несколько тоньше, чем последний. В остальных сегментах верхний зубец как брюшных, так и спинных щетинок едва короче нижнего.

Измененные половые щетинки отсутствуют. В V (атриальном) сегм. число щетинок уменьшенное. Щетинки сидят глубоко в утолщенной гиподерме, и их дистальные концы соприкасаются. По своему виду они вполне схожи со щетинками соседних сегментов.

Поясок покрывает у половозрелых особей заднюю треть IV сегм. и сплошь V и VI членики. Он образован увеличенными железистыми клетками, резко отличающимися от клеток эпителия, покрывающих соседние сегменты. Железистые поясковые клетки отсутствуют в

IV и V сегм. на пространстве между отверстиями семяприемников и ♂-протоков.

Одна пара семяприемников открывается наружу в IV сегм. перед брюшными щетинками, несколько более медиально от них.

Одна пара мужских половых отверстий расположена латерально перед брюшными щетинками V сегм.

За ротовой полостью находится глотка с удлиненными эпителиальными клетками на спинной ее стороне. Хромофильные клетки встречаются в IV сегм. За глоткой расположен пищевод, постепенно расширяющийся и переходящий в кишку. На большом числе особей я убедился, что нет возможности точно указать место, на котором у *Paranais simplex* n. sp. находится расширенный желудок, stomach, описанный Bourne'ом у *Paranais simplex* Müll. в VIII сегм. и отличающийся, как показали мои наблюдения, кроме своих размеров, структурой внутреннего эпителиального покрова. У некоторых особей *Paranais simplex* диаметр пищевода постепенно увеличивается до VII сегм., затем уменьшается до IX (XI) сегм.; у большинства же особей мне не удалось наблюдать уменьшения диаметра пищевода. Что касается гистологического строения пищевода, то мне удалось наблюдать лишь у одной особи узкие впячивания полости пищевода между клетками эпителия, в то время как у *Paranais litoralis* подобные межклеточные впячивания встречаются всегда в VII или в 1/2 VII — 1/2 VIII сегм. (экземпляры из Истрии, сборы Dr. Stammer'a).

В V—VII сегм. расположено по одной паре трансверсальных кровеносных сосудов.

Одна пара семяприемников находится в IV сегм. Ампула, овальная, наполнена спермиями, выводной проток короткий и узкий. У некоторых особей семяприемники занимают почти всю полость IV сегм. и по своей величине не уступают атриальным ампулам. У иных также половозрелых экземпляров семяприемники значительно меньшей величины.

Одна пара небольших семенных воронок прикреплена на диссепименте IV/V. Короткий семяпровод каждого атриума, не образуя петель, проходит прямо к ампуле и открывается в ее нижнем конце. Железистые клетки отсутствуют на наружной стороне семяпровода. Атриальная ампула большая, овальная или цилиндрическая, суживающаяся в короткий выводной проток. Пенис отсутствует. Стенка атриума сложена из двух слоев: из эпителиального покрова и слоя мускулатуры. Ядра мускульных клеток расположены на внешней стороне атриальной ампулы. Непарный семенной мешок, образованный выпячиванием диссепимента IV/V, лежит в полости V—VI (—VII) сегментов. Яйцевые клетки встречаются в яйцевом мешке, проходящем до IX сегм.

Примечание. Систематические признаки, по которым отличается новый вид от *Paranais litoralis*, приведены выше. От остальных видов его легко распознать по положению первого пучка спинных щетинок.

По наблюдениям Bourne (1891) у *Paranais litoralis* встречаются у половозрелых особей в V сегм. обыкновенно 3 измененные щетинки, которые по виду вполне схожи с пениальными щетинками, описанными Piguet (1906) у *Paranais uncinata* в VI сегм. По моему мнению, половой аппарат *Paranais litoralis* перемещен подобно тому, как это имеет место у *Paranais simplex* n. sp., на один сегмент вперед, в отличие от *Paranais uncinata*, у которого семяприемники находятся в V и атриумы — в VI сегм. Мое предположение основано на сходстве измененных щетинок у *Paranais litoralis* и *Paranais simplex*, с одной стороны, и на перемещении полового аппарата у *Paranais simplex* по сравнению с *Paranais uncinata*, с другой. «Грушевидные органы», которые Bourne наблюдал в V сегм. у *Paranais litoralis*, таким образом, не являются семяприемниками, как он полагал, но атриальными ампулами.

Paranais uncinata Oerst. встретился в пробе из оз. Узунь-куль, бассейна Сары-су, ст. 5, 30 июня 1932 г.

Nais elinguis Müll.

Аральское море, ст. № II, III, XVII, XXI, XXIV, XXV, XXIX, XXXI, XXXII (26.VII—8.VIII 1928); ст. № 2, 9, 16, 18, 19, 22, 37 (18.VIII—6.IX 1932) — сборы А. Л. Бенинга.

Аральск, гавань № 1, 2, сваи в гавани.

Аральское море, № 18 (ст. 20), № 24 (ст. 23) (1930) — сборы Никитинского.

Карабай-куль, ст. 12 (4.VII 1932) — сборы Никольского.

Этот вид встречался в материале гораздо реже, чем *Paranais simplex*. Особи из Аральского моря вполне схожи по форме щетинок и по остальным признакам с экземплярами *Nais elinguis* из Швейцарии, полученными мною от Dr. E. Piguet. Рисунки щетинок этого вида, находящиеся в различных работах, неверны и могут лишь ввести в заблуждение, поэтому я нахожу нужным привести здесь рисунок дистального конца расщепленной спинной щетинки, сделанного по препарату особи из р. Лиммат в Швейцарии (фиг. 11).

Несмотря на то, что у всех мною просмотренных особей из Аральского моря были развиты глаза, я полагаю, что вид *Nais aralensis* (Beklemišev-Lastočkin) без глаз идентичен с *Nais elinguis* Müll. В этом меня убеждает описание спинных щетинок, приведенное Ласточкиным (в работе Беклемишева, 1922): «зубчатые щетинки с крупными зубцами ($^1/_{20}$ длины щетинки), но не загнутыми, расходящимися под острым углом».

Stylaria lacustris (L.) мною обнаружена лишь в пробе из оз. Чебакты-куль, ст. 13, 6.VII 1932.

Сем. *Tubificidae*

Ilyodrilus bavaricus Oschm.

Аральское море, ст. № XXI—XXIV, XXXI (26.VII—8.VIII 1928), ст. № 6b, 19, 31, 37 (18.VIII—6.IX 1932) — сборы А. Л. Бенинга.

Оз. Каржун-куль, ст. № 16—17 (8.VII 1932).

Оз. Чебакты-куль, ст. № 13 — сборы Г. В. Никольского.

Наиболее распространенным видом сем. *Tubificidae* является в Аральском море представитель рода *Ilyodrilus*, принадлежащий, судя по описанию, приведенному в работе Oschmann'а (1913), к виду *bavaricus* Oschm. Диагноз этого вида во многих отношениях не полон, и потому определение не может считаться вполне безукоризненным. В другой работе я займусь специально систематикой рода *Ilyodrilus*, здесь лишь отмечу, что простатическая железа отсутствует не только у *Ilyodrilus moldaviensis* (Vejd et Mrázek) и *Il. bavaricus* Oschm., но также и у *Il. heuscheri* (Bret.) и *Il. bedoti* Pig., как показало исследование экземпляров, полученных мною от проф. E. Piguet.

Перечисленные четыре вида отличаются друг от друга главным образом по форме сперматекальных щетинок (*Il. moldaviensis* и *bedoti* легко узнать также по иным признакам). Половые щетинки *Ilyodrilus bavaricus* отличаются несколько от сперматекальных щетинок особей из Аральского моря, но так как не известно, насколько точно нарисовал Oschmann рисунки щетинок, не приходится пока придавать этим различиям большого значения. Поэтому я и считаю червей из Арала за принадлежащих к виду *Ilyodrilus bavaricus*.

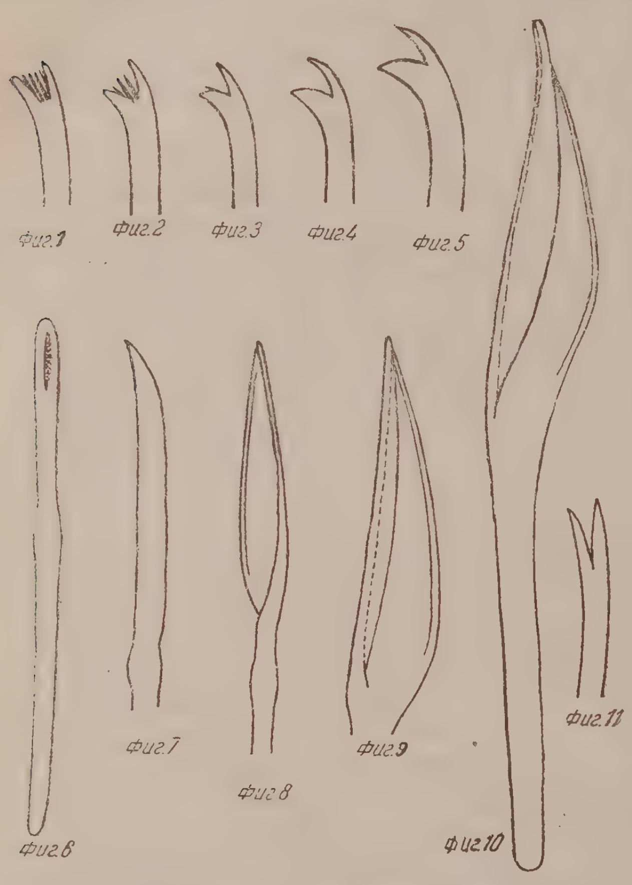
Описание экземпляров *Ilyodrilus bavaricus* Oschm. из Аральского моря следующее.

Длина не превосходит 15 мм (по Oschmann'у размеры живых особей равняются 20—35 мм). Число сегментов 55—80. Наибольшая толщина (в X сегм.) 0.4 мм (по Oschmann'у — 0.8—1 мм).

Формула щетинок =	II—III, 3(2)			II 2
	3	1		
По Oschmann'у =	III—V, 5			1 2
	4—3	1		2

Римские цифры над горизонтальной линией обозначают число волосовидных щетинок, под чертой — количество половых измененных щетинок, жирные цифры указывают число веерообразных щетинок, арабские цифры означают число обыкновенных расщепленных щетинок. Число щетинок у экземпляров из Арала меньше, чем приводит Oschmann.

Длина волосовидных щетинок короче или равняется диаметру сегмента. Веерообразные спинные щетинки в передних сегментах имеют оба зубца одинаковой длины, но нижний несколько толще верхнего. Между ними находятся 3—4 промежуточных зубчика; в сегментах за пояском число их уменьшается, но еще в XXXI сегм. я наблюдал в спинных щетинках по одному промежуточному зубчику (фиг. 1—3). Угол, образованный зубцами в III сегм., равняется 30°, в XXX сегм. 45°.



Фиг. 1—10. *1.* Дистальный конец спинной щетинки III сегмента. *2.* X сегмент. *3.* XXXI сегмент. *4.* Дистальный конец брюшной щетинки II сегмента. *5.* X сегмент. *6—10.* Сперматекальные щетинки особей на различной ступени развития полового аппарата. (Фиг. 1—5 увеличение 1200, фиг. 6—10 увеличение 800. *Nais elinguis* Müll. Фиг. 11. Дистальный конец спинной щетинки. Увел. Komp. Okul. 20, Oel—I mm. 1/12)

Брюшные щетинки имеют верхний зубец значительно тоньше, чем нижний (фиг. 4—5). Оба зубца сперва одинаковой длины, затем, за пояском, верхний короче нижнего. На дистальном конце верхний зубец сильно загнут вниз.

В X сегм. брюшные щетинки замещены у половозрелых экземпляров измененными сперматекальными щетинками. На фиг. 6—10 приведены щетинки, наблюдаемые у червей на различной степени половой зрелости. Длина сперматекальных щетинок равняется около 150 μ, наибольшая ширина 16—18.7 μ. Обыкновенные брюшные щетинки у неполовозрелых особей в X сегм. длиной в 110—130 μ.

Хлорагогенные клетки покрывают пищеварительный тракт от VI сегм.

Одна пара семенников в X сегм., одна пара яичников в XI сегм., одна пара ♂-выводных протоков в XI сегм. Семенная воронка каждого ♂-протока прикреплена на диссепименте X/XI. Семяпровод короткий (около 150 μ), гораздо у́же, чем следующие отделы выводного протока. Простатическая железа отсутствует совершенно. Дальнейший, более широкий отдел протока, резко ограниченный от семяпровода, покрыт внутри железистым эпителием. Гранулы в клетках этого отдела красятся эозином в яркокрасный цвет. Такие же зернышки секрета я наблюдал в эпителиальных клетках в передней части атриума и у остальных видов *p. Ilyodrilus*, не имеющих простаты. За этим отделом следует часть с эпителием, протоплазма которого имеет пенистое строение. Третий отдел, соответствующий пениальному бульбусу других тубифицид, заканчивается пенисом, расположенным в довольно глубоком пениальном влагалище, которое открывается наружу узким отверстием. Пенис по своей форме напоминает копуляционный орган *Ilyodrilus moldaviensis*. ♂-выводной аппарат, таким образом, совершенно сходен с выводным протоком остальных видов *p. Ilyodrilus*, не имеющих простаты.

Семяприемники состоят из овальной ампулы и короткого, резко от нее отграниченного выводного канала. Они открываются в боковой линии в X сегм.

Limnodrilus helveticus Piguet

Аральское море, ст. № XXI—XXIII, 40.

Оз. Кыркабай-куль, ст. № 15 (7.VII 1932).

Оз. Каржун-куль, ст. № 16 и 17 (8.VII 1932).

Лишь некоторые особи из оз. Каржун-куль были половозрелы, и потому точность их определения несомненна. Остальные экземпляры я определил по иным признакам, по которым этот вид отличается от *Limnodrilus hoffmeisteri*.

Limnodrilus hoffmeisteri Clap.

Река Сыр-Дарья, заводь у Чиназа, 9.IV 1932.

В пробе была встречена одна половозрелая особь.

Сем. *Enchytraeidae*

Pachydrilus lineatus (Müll.)

Аральское море, ст. № XII и 19.

Половозрелые экземпляры этого вида любезно определил Л. В. Черносвитов. Очень интересно, что ст. 19 находится почти в середине Аральского моря, и потому нужно полагать, что *Pachydrilus lineatus* не принадлежит к случайным обитателям этого озера.

Зоологический институт им. Т. Г. Масарика.
Брно, Чехо-Словакия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беклемишев В. Н., Русский гидробиологический журнал, т. I, 1922.
2. Берг Л. С., Известия Туркестанского отделения Русского географического общества, т. V, 1908.
3. Bourne A., Quart. J. micr. Sci., n. ser., v. 32, 1891.
4. Černosvitov L., Zool. Anz., Bd. 91, 1930.
5. Грабье С. А. и Черносвитов Л. В., Русский гидробиологический журнал, т. VIII, 1929.
6. Michaelsen W., Oligochaeten aus dem Ryck bei Greifswald und von benachbarten Meeresgebieten. Mitt. zoolog. Staats. Inst., Bd. 42, Hamburg, 1926.
7. Никитинский В. Я., Труды Аральской научной рыбохозяйственной станции, т. I, 1933.
8. Oschmann A., Zoolog. Anz., Bd. 42, 1913.
9. Piguet E., Bretscher K., Catalogue des Invertébrés de la Suisse, fasc. 7, 1913.
10. Piguet E., Rev. Suisse Zool., v. 21, 1913.
11. Piguet E., Bull. Soc. Neuchâtel des Sci. net., n. ser. 1, v. 52, 1928.
12. Ude H., Die Tierwelt Deutschlands, Bd. 15, 1929.
13. Vejdovsky F. u. Mrázek A., Über Potamothrix (Olitellio) moldaviensis n. g. n. sp. Sitzber. böhm. Ges. Wiss. in Prag, 1902.

SERGĚJ HRABĚ. ZUR KENNTNIS DER OLIGOCHAETEN DES ARAL-SEES

ZUSAMMENFASSUNG

Die Oligochaeten des Aral-Sees blieben bis jetzt fast unbekannt. Nur Beklemišev gibt an, dass in diesem See ausser einer nicht näher bestimmten Art, noch *Paranais litoralis* und *Nais aralensis* Lastočkin (Beklemišev, 1922) vorkommen. In dem Material, welches ich von Herrn Prof. A. L. Behning zur Bearbeitung erhielt, stellte ich folgende Arten fest: *Paranais simplex* n. sp. mihi., *Nais elinguis* Müll., *Ilyodrilus bavaricus* Oschm., *Tubifex* (*Psammoryctes*) sp. (*-albicola Mich*?), *Limnodrilus helveticus* Pig. und *Pachydrilus lineatus* (Müll.).

Paranais litoralis kommt in dem Aral-See nicht vor, sondern, die von Beklemišev angeführte Art gehört zu *Paranais simplex* n. sp. mihi. *Nais aralensis* Lastočkin (Beklemišev) ist mit *Nais elinguis* Müll. identisch. Aus der Liste der Oligochaeten folgt, dass die Zahl der im Aral-See lebenden Arten nicht allzu gross ist. In diesem See treten keine marinen Oligochaeten zowie auch keine endemischen Arten auf. Die neue Art *Paranais simplex* war mir schon früher aus einigen Zuflüssen des Elton-Sees bekannt.

Das Vorkommen des *Ilyodrilus bavaricus* Oschm. im Aral-See ist bemerkenswert. Seine genaue Bestimmung ist aus Mangel an vergleichendem Material nicht ganz sicher. Diese Art war bis jetzt nur aus München bekannt. Die weitere Fundangabe von Michaelsen im Hafen zwischen oberem und mittlerem Ryck bei Greifswalde ist fraglich, denn ihm lag nur ein einziges Exemplar vor, welches er nur nach den äusseren Merkmalen bestimmte. Die Zahl der Proben, in welchen einzelne Arten vorhanden sind, ist in Tab. I. angeführt.

Ausser dem Material aus dem Aral-See untersuchte ich einige Proben aus kleineren Seen aus dem Ausfluss des Flusses Sary-Su der weiter östlich gelegen ist. Die darin vorkommenden Arten sind auf Seite 1267 angeführt. Diagnose der *Paranais simplex* n. sp. mihi.

Die geschlechtsreifen Exemplare bestehen aus 28—41 Segm. Die durch Paratomi sich vermehrenden Stücke bilden manchmal Ketten aus 4 Zooiden. Die Segmentzahl der vorderen mütterlichen beträgt 14—24. Die geschlechtsreifen Stücke sind 4—4.5 mm lang und am Gürtel (V. Segm.) 0.32—0.44 mm dick. Augen fehlen.

Dorsale Borsten treten vom V. Segm. auf. Im V—VIII. (IX.) Segm. kommen je 4 Gabelborsten in jedem Bündel vor, in den weiteren je 3. In den II. Segm. sind je 5 (bei den geschlechtsreifen Tieren je 6) Borsten vorhanden, im III—V je 4, in den übrigen je 3. Bei einigen Exemplaren kommen sogar in IX. Segm. je 4 Borsten vor. Die Bauchborsten des II—IV. Segm. sind nicht länger und dünner als die der übrigen Segmente. In dem II. Segm. sind beide Zinken gleich lang, die obere ist aber etwas dünner als die untere. In den übrigen Segmenten ist in den ventralen sowie auch in den dorsalen Borsten die obere Zinke ein wenig kürzer als die untere. Die modifizierten Geschlechtsborsten fehlen vollkommen. Im V. Segm. ist die Zahl der Borsten nur vermindert, die distalen Enden der Borsten sind genähert.

Der Gürtel bedeckt das letzte Drittel des IV. Segm. sowie auch das ganze V. und VI. Segm.— 1 Paar Samentaschen münden im IV. Segm. etwas medial vor den Bauchborsten. I Paar männliche Poren öffnen sich nach aussen lateral vor den ventralen Borsten des V. Segm. «Stomach» fehlt in dem VIII. Segm. Oesophagus erweitert sich bis zum VII. Segm., dann verengert er sich wieder bis zum IX. (XI. Segm.). Bei *P. simplex* n. sp. fehlen die interzellularen Kanälchen zwischen den Epithelzellen, welche ich bei *P. litoralis* aus Istrien (Dr. Stammer leg.) regelmässig im VII. oder ½ VII—½ VIII. Segm. beobachten konnte. I Paar transversale Gefässe sind in den Segm. von V. bis VII. vorhanden. Die Samentaschen bestehen aus einer ovalen Ampulle und einem kurzen und engen Gang. Bei einigen Stücken erfüllen die Samentaschen die ganze Höhle des IV. Segm.—Der Samentrichter jedes ♂-Ausfuhrapparates ist an dem Dissepiment IV/V. befestigt. Der kurze Samenleiter geht direkt zu der Atrialampulle und mündet in ihr distales Ende ein. Die Drüsenzellen bedecken nicht den Samenleiter von aussen. Die Atrialampulle ist gross, oval oder schlauchförmig. Sie geht in einen kurzen Ausfuhrgang über. Penis fehlt. Unpaariger Samensack erstreckt sich vom Diss. IV/V bis zum VI. bzw. VII. Segm. Die Eier liegen in dem Eiersack bis zum IX. Segm.

Paranais simplex n. sp. weicht von dem *P. litoralis,* bei welcher die Rückenborsten auch vom V. Segm. beginnen, schon durch folgende Merkmale ab: 1) die Zahl der Borsten ist bei *P. simplex* grösser als bei *P. li-*

toralis, 2) bei der neuen Art fehlen die modifizierten Geschlechtsborsten, wogegen bei *P. litoralis* solche (Penial) Borsten im V. Segm. vorkommen.

Meiner Ansicht nach muss man die umgewandelten Borsten im V. Segm. bei *P. litoralis*, welche Bourne 1891 abbildete und welche mit den Penialborsten des *P. uncinata* aus dem VI. Segm. der Form nach übereinstimmen, als Penialborsten betrachten, wie dies auch bei der letztgenannten Art der Fall ist. Die ovalen Gebilde, welche bei *P. litoralis* in der Nähe der umgewandelten Borsten nach aussen sich öffnen, sind keine Samentaschen, wie Bourne angab, sondern die Atrien. Die Vermehrungsorgane bei *P. simplex* und wahrscheinlich auch bei *P. litoralis* sind um ein Segment nach vorne hin verschoben im Gegensatz zu *P. uncinata*.

Ilyodrilus bavaricus Oschm.

In einer weiteren Arbeit sollen die Vertreter des *Ilyodrilus*-Gattung untersucht werden. Es sei hier nur angeführt, dass die Prostata-Drüsen nicht nur bei den *Il. bavaricus* und *moldaviensis*, sondern auch bei *Il. heuscheri* und *bedoti* fehlen. Durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. E. Piguet war es mir möglich die Vertreter der beiden letztgenannten Arten zu untersuchen, und ich konnte das Fehlen der Prostata-Drüsen bei diesen Arten vollkommen einwandfrei feststellen.

Ilyodrilus bavaricus aus dem Aral-See zeigt nachfolgende Merkmale: die Länge überschritt nich 15 mm. Segmentzahl 55—80. Max. Dicke um X. Segm. 0.4 mm. Borstenformel siehe S. 1271. Die Zahl der Borsten ist also kleiner als diejenige aus München,

Die Haarborsten sind fein gefiedert, sie sind länger oder eben so lang wie die Dicke des betreffenden Segm. Beide Zinken der Fächerborsten sind gleich lang, aber die untere ist stärker als die obere. Zwischen den Zinken kommen 3—4 Zwischenzähnchen vor. Im XXXI. Segm. tritt noch I Mittelzähnchen in den Rückenborsten auf. Die Zinken der Bauchborsten sind anfangs gleich lang, jedoch später, hinter dem Gürtel, ist die obere kürzer als die untere. Die obere Zinke ist distal nach unten sichtbar gebogen. Die Spermathekal-borsten treten in dem X. Segm. statt der Bauchborsten auf. Sie sind vollkommen entwickelt, ca. 150 μ lang, ihre max. Breite beträgt 16—18.7 μ.

Die Anordnung des Geschlechtsapparates ist wie bei dem *Il. bavaricus*. Der ♂-Ausfuhrapparat ist bei *Il. bavaricus* sowie bei *Il. heuscheri* und *bedoti* wie bei *Il. moldaviensis* gebaut. Besonders wichtig ist, dass alle von mir untersuchten geschlechtsreifen Individuen der oben genannten Arten, eine gleiche zytologische Struktur des inneren Epithels aufweisen. In den Zellen des Epithels und vorderen Abschnitts des ♂-Ausfuhrganges befinden sich charakteristische Sekretkörnchen, die sich lebhaft mit Eosin färben. In dem folgenden Teil des Atriums ist das Protoplasma mit schaumigen Sekret erfüllt.

Brno Č. S. R.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences
mathématiques et naturelles

Отделение математических
и естественных наук

A. BIRULA

ÜBER EINIGE NEUE ODER WENIG BEKANNTE SOLIFUGEN AUS MITTELASIEN UND DEM KAUKASUS. I

Daesia (*Bitonissus*) *schelkovnikovi* n. sp.

Der Autor gibt die Beschreibung eines neuen Typus der Art *Daesia* (Solifuga), welcher in der Umgebung Eriwans gefunden wurde. Mit den früher bekannten Typen wurden innerhalb Transkaukasiens insgesamt 8 Solifuge-Typen entdeckt.

5 ♂ ad. + 1 ♀ semid. + 2 ♀ juv. Transkaukasien, Armenien, Umgebung der Stadt Eriwan (Parakar), 28/V—25/VI 1925, leg. A. B. Schelkovnikov.

Grundfärbung des Körpers nebst Extremitäten sandgelb; Abdomen graugelblich, Kopf oben und Pedipalpen vom Ende des Femurs zum Ende des Tarsus, auch Femur, Tibia und Basalhälfte des Metatarsus der Hinterbeine dunkelbraun die übrigen Beine ebenfalls mehr oder weniger gebräunt. Überhaupt ist diese *Daesia*-Art im Vergleich mit den die Sandwüsten bewohnenden Arten dieser Gattung weit dunkler gefärbt.

Der fast durchaus schwarze Augenhügel nimmt etwas weniger als ein Drittel des Stirnrandes ein; er ist überall, aber besonders auf dem Hinterabhange, dicht mit langen Haaren besetzt; die zwischen den Augen sitzenden 2—3 Haarpaare sind besonders lang und nach vorn gebogen; auf dem Vorderabhange des Augenhügels sind vier, je auf einem kugeligen Sockel, paarweise übereinanderstehende, lange (länger als der Augenhügel selbst) Borsten vorhanden; unter denselben quer über den Vorderrand des Augenhügels sitzen die zahlreichen, nach vorn gerichteten, steifen, etwas kürzeren Börstchen. Die Mandibeln sind überhaupt ziemlich schwach verdickt, nach vorn zu konisch schmäler werdend, in den ein wenig nach aussen gebogenen, ziemlich dicken und langen (ein wenig länger als die Mandibelbreite) Oberfinger übergehend. Von der Seite gesehen ist der Oberfinger oben buckelförmig vorgewölbt, vom breiten Basalteil nach vorn zu stark verjüngt und mit schmaler Spitze ein wenig nach unten gebogen; sein Endteil vor dem Vorderzahne mit der Reihe der vier vorderen Zähne gleich lang. Der Oberkiefer ist in der Hauptreihe

mit 8 ziemlich starken Zähnen versehen, von welchen der 2., 4. (am stärksten) und 5. stark, indessen der 1., 3. und alle hintere kleiner sind; der Vorderzahn ist mittelgross, breit, auf dem hinteren Drittel des Fingerendteils sitzend; in der inneren Reihe sind drei kegelförmige Zähne vorhanden, von welchen die beiden stärkeren sehr hoch, dornartig, fast dem 4. Zahn der Hauptreihe gleich gross sind; der Zwischenzahn fehlt; der hintere Zahn ist winzig, aber deutlich entwickelt. Der bewegliche Finger ist ein wenig gebogen; sein unbezahnter Vorderteil ist vor dem Vorderzahne ein wenig convex, etwa anderthalbmal kürzer als der Hinterteil; die beiden Hauptzähne des Fingers sind stark, aber der Zwischenzahn ist winzig, isoliert stehend. Das Flagellum wie dem Oberfinger (von der Befestigungsstelle des Flagellums zur Endspitze des Fingers gemessen) ist fast gleich lang, über dem 5. Zahn des Oberfingers befestigt, nach hinten zu ziemlich breit zugespitzt und am Ende etwas nach oben gebogen, am Oberrande fast um seine Hälfte und am Unterrande sehr schmal umgeschlagen, längs den beiden umgeschlagenen Rändern, aber vorzugsweise am Endteil, fein gerandet. Nach der Form des Flagellums und der Endteile der beiden Mandibularfinger unterscheidet sich die in Rede stehende Art deutlich von *D. rossica* Bir. (Mittelasien). Der Metatarsus der Pedipalpen ist ziemlich schwach mit Dornen versehen und zwar vorzugsweise auf der äusseren Seite des Gliedes, wo meistens alle drei Dornen die gewöhnliche Längsreihe bilden, während auf der inneren Seite die ihnen paarigen Dornen in die etwas längeren Borsten umgewandelt sind. Bei einigen Tierchen ist sogar nur ein einziger Aussendorn des mittleren Paares entwickelt; die übrigen erscheinen als feine Borsten. Die Unterseite sämtlicher Glieder der Pedipalpen ist jedoch reichlich mit den langen, basal verdickten, zum Teil paarigen Borsten besetzt, welche anscheinend beim Festhalten des Weibchens während der Copula auf diese Weise als Dornen funktionieren. Der Metatarsus des 2. und 3. Beinpaares ist mit $1+2$ und der Tarsus mit $1+1+2/0$ Randdornen versehnen; der Metatarsus des hinteren Beinpaares ist mit $1+1+2$ oder $1+2$ und der Tarsus mit drei Paaren von Randdornen versehen, welche folgenderweise angeordnet sind: $2+0+0+2/0/2/0$, d. h. auf dem 1. Gliede gibt es nur zwei Paare derselben, von welchen ein Paar basal und das andere apical auf dem Gliede sitzen; das apicale Dornenpaar ist länger als die beiden übrigen Paare. Keine Ktenidien sind auf den Abdominalsterniten vorhanden.

Beim grössten Männchen beträgt die Körperlänge 15 mm, Kopfbreite 3 mm, Mandibellänge 3.3 mm, Pedipalpenlänge 12 mm und die Länge des Hinterbeines 18 mm.

♀: Färbung, Bezahnung der Mandibel, nach der Zahl der Zähne, und Ausstattung der Beine mit den Randdornen sind dieselben wie bei dem Männchen; nur der Augenhügel ist verhältnismässig kaum kleiner. Die Sternite des Geschlechtssegmentes sind dreieckig, mit der ein wenig her-

vortretenden äusseren Hinterecken. Alle drei mir zur Verfügung stehen den weiblichen Exemplare sind zu klein und daher noch nicht geschlechtsreif.

Diese neue *Daesia*-Art gehört, nach der Ausstattung der Beintarsen mit Randdornen zu urteilen, zur Boewer'schen Gattung oder vielleicht, wie es mir wahrscheinlicher ist, Untergattung, *Bitonissus*, zu welcher auch eine Art, *D.* (*B.*) *xerxes* Roew., aus Südwest-Persien (Schiras) gehört; von dieser letzteren Art ist bisher doch nur ein Weibchen bekannt.

Es ist ausserordentlich auffallend, dass, ungeachtet dessen, dass das Araxes-Tal schon seit langem von zahlreichen tüchtigen Sammlern besucht wird, erst bei Erforschung des Tierbestandes desselben im Laufe all der Jahre, welche unlängst von dem leider zu früh verstorbenen Direktor des armenischen Museums zu Eriwan, A. B. Schelkovnikov systematisch durchgeführt worden war, immer, wieder die neuen Arten der Walzenspinnen vorgefunden wurden, wie es mit *Galeodes armeniacus* Bir. der Fall ist.

Zur Zeit sind 8 Arten von Solifugen der Fauna Transkaukasiens bekannt und zwar.

1. *Galeodes araneoides* Pallas — überall in Ost-Transkaukasien (östlich vom Surampass) verbreitet.
2. *Galeodes armeniacus* Bir. — nur im Araxes-Tal gefunden.
3. *Rhagodes caucasicus* Bir. — Araxes-Tal und der Mittellauf des Kura-Flusses.
4. *Paragaleodes melanopygus* Bir. — Talysch.
5. *Gylippus caucasicus* Bir. (nebst var. *koenigi* Bir.) — Ost-Transkaukasien, überall.
6. *Karschia caucasica* L. Koch. — Aserbajdschan (Umgebungen der St. Baku).
7. *Karschia mastigophora* Bir. — Ost-Transkaukasien, vorzugsweise im Gebirge.
8. *Daesia schelkovnikovi* Bir. — Araxes-Tal.

Vielleicht ist durch die Auffindung der obenerwähnten Arten jedoch der artliche Bestand der Walzenspinnen der Fauna Transkaukasiens noch nicht erschöpft, da das Vorkommen der Vertreter der vorderasiatischen Gattung *Rhinippus* in dem südwestlichen Teile Transkaukasiens nicht ausgeschlossen ist.

А. А. БИРУЛЯ. О НЕКОТОРЫХ НОВЫХ ИЛИ МАЛО ИЗВЕСТНЫХ ФАЛАНГАХ ИЗ СРЕДНЕЙ АЗИИ И С КАВКАЗА. I

РЕЗЮМЕ

Статья заключает описание нового вида из рода *Daesia* (*Solifuga*), найденного А. Б. Шелковниковым в долине р. Аракса (окрестности г. Ереван). Вид этот пополняет фауну Закавказья одним предста-

вителем рода *Daesia* (подр. *Bitonissus*), ранее не известным для этой фауны, и доводит число видов сольпуг, обнаруженных по сие время в пределах Закавказья, до 8 видов: *Galeodes araneoides* Pall. — во всем Закавказье, кроме Черноморского побережья, *G. armeniacus* Bir.— долина р. Аракса, *Paragaleodes melanopygus* Bir.— Талыш, *Rhagodes caucasicus* Bir.— Юго-восточная часть Закавказья, *Gylippus caucasicus* Bir.— Вост. Закавказье, *Karschia caucasica* L. Koch.— Азербайджан, *Karschia mastigophora* Bir.— Вост. Закавказье, преимущественно в горах, *Daesia schelkovnikovi* Bir.— долина р. Аракса.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences
[mat]hématiques et naturelles

Отделение математических
и естественных наук

A. BIRULA

ÜBER EINIGE NEUE ODER WENIG BEKANNTE SOLIFUGEN AUS MITTELASIEN UND DEM KAUKASUS. II

Über die Variabilität von *Daesia rossica* Bir.

An dem reichen Material der Sammlung des Zoologischen Museums der Akademie der Wissenschaften für die mittelasiatische Art der *Daesia rossica* Bir. hat der Autor den Standpunkt Roewers über die Möglichkeit der Klassifizierung der Arten und Unterfamilien nach den Randtypen der drei Hinterfusspaare geprüft. Die Beobachtungen des Autors bestätigen nicht **den Standpunkt Roewers.**

Unter den zahlreichen Walzenspinnen-Arten Mittelasiens stellt *Daesia rossica* Bir. Beispiel eines ausgesprochenen Wüstenbewohners dar, da sie überall in den Lehm- und Sandwüstenteilen dieses Landes verbreitet ist. Diese Art kommt in der Karakum-Wüste vom Kaspischen Meer bis zum Flusse Amu-Darja und in der Kisylkum-Wüste von Süd-Bucharei bis zum Flusse Syr-Darja vor, und ist dort sehr verbreitet; sie fehlt auch nicht nördlich von dem letzgenannten Flusse, wo die Walzenspinne in den südlichen Teilen Kasakstans (Semiretschje) gefunden worden ist. Dem so ausgedehnten Verbreitungsareale gemäss, zeigt *Daesia rossica* eine ziemlich starke Variabilität ihrer sämtlichen Artmerkmale. Besonders ist eine bedeutende Variabilität der Randdornenbewehrung auf der Unterseite der Tarsalglieder der Laufbeine und des Metatarsus der Pedipalpen bemerkenswert, da Roewer in seiner bahnbrechenden Monographie der Solifugen-Ordnung (Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreiches, vol. V, 1933) annimmt, dass die Zahl und die Verteilung der Randdornen auf den Tarsalgliedern der Laufbeine der Solifugen individuell überhaupt keine Veränderlichkeit zeigen und deswegen als ein festes Gattungsmerkmal anzusehen sind. Zur Zeit steht zu meiner Verfügung eine Anzahl von männlicher wie auch weiblicher Exemplare von *Daesia rossica* Bir., welche aus verschiedenen Gegenden des ganzen bisher bekannten Verbreitungsgebietes dieser Walzenspinnen-Art stammen. Dank dem erwähnten Umstande war ich imstande, die ziemlich zeitraubende Arbeit der Aufzählung der Randdornen auf den Extremitäten dieser *Daesia*-Art durchzuführen. Diese Arbeit hat keine befriedigenden

Resultate vom Gesichtspunkte der Zuverlässigkeit dieses Merkmales, sowohl als Gattungsmerkmal, wie auch als Artmerkmal, gegeben. Wie aus der beigefügten Tabelle zu ersehen ist, variiert die Zahl der Randdornen auf den Tarsen und Metatarsen bei *Daesia rossica* beträchtlich.

Variabilität der Randdornenbewehrung der Extremitäten bei *Daesia rossica* Bir.

№	Fundort	Geschlecht	Pedipalpen-Metatarsus	2. Beinpaar		3. Beinpaar		4. Beinpaar	
				Metatarsus	Tarsus	Metatarsus	Tarsus	Metatarsus	Tarsus
1	Krassnovodsk	♂	2.2.2 2.1.2	1.2.2	1.1.2.1.2/0 0.1.2.1.2/0	1.2.2	1.2.2.1.2/0 1.2.2.1.2/0	1.1.2 ext. 1.1/int. 1.12	2.2.2/0/2/0 ext. 14/int. 5
2	id.	♀	0	1.2.2	1.2.1.2/0	1.2.2	0.2.2.1.2/0 1.2.2.1.2/0	0.1.2	2.2.2/0/2/0
3	d.	♂	2.1.2 2.2.2	1.2.2	1.2.1.2/0	1.2.2	0.1.2.1.2/0 1.1.2.1.2/0	1.1.2	1.2.2.2/0/2/0 0.2.2.2/0/2/0
4	id.	♀	0	1.1.2 1.2.2	1.2.1.2/0	1.2.2	1.1.2.1.2/0 0.1.2.1.2/0	1.1.2	2.2.2/0/2/0
5	Askhabad	♀	0	1.1.2	1.2.1.2/0	1.2.2	1.2.1.2/0	1.1.2	ext. 4/0/2/0; int. 7/0/3/0 2.2.2/0/2/0
6	Bairam-ali	♂	2.2.2 1.2.2	1.2.2	1.2.1.2/0	1.2.2	0.1.2.1.2/0 1.1.2.1.2/0	0.1.2	2.2.2/0/2/0
7	Amu-Darja	♀	0	0.2.2	0.2.1.2/0	1.2.2 0.2.2	0.2.1.2/0	1.1.2 0.1.2	0.2.2/0/2/0
8	Samarkand	♀	0	0.1.2	2.2.1.2/0	1.2.2	1.2.2.2/0 2.2.1.2/0	0.1.2	2.2.2/0/2/0 1.2.2/0/2/0
9	id.	♂	2.1.2 2.2.2	0.1.2	2.2.1.2/0	1.2.2	2.2.1.2/0	fehlt	fehlt
10	Kokand	♂	2.1.2 2.2.2	0.1.2	2.2.1.2/0	1.2.2	2.2.1.2/0	0.1.2	2.2.2/0/2/0
11	Kisyl-Kum (Bel-tau)	♂	2.2.2	0.1.2	2.2.1.2/0 1.2.1.2/0	1.2.2	2.2.1.2/0	0.1.2	2.2.2/0/2/0
12	id.	♂	1.2.2 2.2.2	0.2.2	1.2.1.2/0 2.2.1.2/0	1.2.2	0.1.1.1.2/0 2.2.2.1.2/0	0.1.2	2.2.2/0/2/0
13	Buchara (Kabadian)	♂	2.2.2	fehlt	fehlt	1.1.2	1.2.1.2/0	0.1.2	2.2.2/0/2/0
14	Kisyl-Kum (Bel-tau)	♂	2.2.2	0.2.2	1.2.1.2/0	1.2.2	1.2.1.2/0	0.1.2	2.2.2/0/2/0
15	Dschulek (Baiga-Kum)	♂	0.1.2 1.1.2	0.1.2 1.1.2	1.2.1.2/0	1.1.2 1.2.2	1.2.1.2/0 1.2.1.2/0	0.1.2	1.2.2/0/2/0
16	id.	♂	2.1.2 2.1.2	0.1.2	0.2.1.2/0	0.1.2	0.2.1.2/0	0.1.2	2.2.2/0/2/0

Solch eine Variabilität gibt es nicht nur bei den einzelnen Exemplaren dieser Walzenspinne, sondern auch bei einem und demselben Individuum auf der rechten und linken Körperseite oder auf der Aussen- und Innenseite eines und desselben Gliedes. Nicht selten kommen einige Missbildungen vor, d. h. eine anormale, anscheinend wegen einer Verkümmerung oder Verletzung der Extremität krankhafte Vermehrung von Randdornen, wie es bei einem Exemplar der No. 1 (s. Tabelle) auf dem

Tarsus und Metatarsus des linken 4. Beines oder bei No. 5 auf dem Tarsus des rechten 4. Beines der Fall ist. Trotzdem kann man annehmen, dass es für die Art eine typische Anzahl von Randdornenpaaren gibt; und zwar bei *D. rossica* trägt das 2. Beinpaar auf dem Metatarsus meist 1 + 2 + 2 bei den aus Turkmenien stammenden Stücken oder 0 + 2 + 2 und 0 + 1 + 2 bei den Stücken, welche in den nach Osten vom Amu-Darja Flusse liegenden Ländern Turkestans erbeutet worden waren; auf dem Tarsus trägt es meist 1 + 2 + 1 + 2/0 oder 2 + 2 + 1 + 2/0 Randdornen; das 3. Beinpaar trägt auf dem Metatarsus fast immer 2 + 2 + 2 und auf dem Tarsus meistens bald 1 + 2 + 1 + 2/0, bald 2 + 2 + 1 + 2/0 Randdornen; das 4. Beinpaar ist endlich auf dem Metatarsus bei den westlichen Stücken meist mit 1 + 2 + 2 und bei den östlichen meist mit 0 + 2 + 2 Randdornen bewehrt; auf dem Tarsus trägt es meist 2 + 2 + + 2/0/2/0 Randdornen. Der Pedipalpenmetatarsus des Männchens ist grösstenteils mit 2 + 2 + 2 gleich grossen Randdornen versehen; jedoch bei einigen aus den nördlichen Gegenden des Verbreitungsareals stammenden Stücken (z. B. aus Dshulek No. 15—16) trägt er manchmal (keineswegs immer) die beiderseits nicht gleichlangen Randdornen; namentlich sind die Randdornen der Aussenseite feiner und kürzer, als die der Innenseite.

Eine Variabilität ist bei *Daesia rossica* nicht nur in der Bedornung der Extremitäten vorhanden, sondern auch in einigen anderen spezifischen Merkmalen. Die Zahnbewehrung des oberen Mandibelkiefers ist in der Hauptreihe nach der Zahl und Anordnung der Zähne anscheinend konstant; doch die Zähne der inneren (Wangen-) Reihe, welche grösstenteils in einer Anzahl von 4. Stücken, d. h. zwei grossen und zwei kleinen Zähnen vorhanden sind, befinden sich nicht immer in vollständiger Anzahl, da nicht selten ausser den beiden Hauptzähnen nur noch ein einziges Zwischenzähnchen vorhanden ist, während das hintere, ebenfalls sehr winzige Zähnchen fehlt. Es ist nicht ohne Interesse, dass demgegenüber bei *Daesia* (*Bitonissus*) *schelkovnikovi* Bir. (Kaukasus), mindestens bei allen mir zur Verfügung stehenden Stücken, die Anzahl dieser Zähne konstant ist; und zwar fehlt der Zwischenzahn bei ihnen immer, während das hintere Zähnchen gut entwickelt ist. Bei einem mir vorliegenden und aus dem Südteil des Gebirgslandes der Bucharei (Kabadian, 17.VI. 1910 N. Zarudny leg.) stammenden Exemplar von *Daesia*, welches nach der Bedornung der Pedipalpen und Laufbeine, wie auch nach den anderen Merkmalen ohne Zweifel zu der Art *D. rossica* gehört, trägt nur der rechte Unterkiefer der Mandibel zwei Zwischenzähnchen, wie es doch für die beiden Unterkiefer bei *D. turkestana* Roem. aus dem Chinesischen Turkestan (Tarim) der Fall ist. Die letzerwähnte Art ist anscheinend mit *D. rossica* sehr nahe verwandt; nach den Roewer'schen Beschreibung und Abbildungen (l. c., pp. 408—409, fig. 279) der *D. turkestana* zu urteilen, unterscheidet sich diese Art von der westli-

chen *D. rossica* nur durch die Anwesenheit einer dunkeln Längsbinde auf der Oberseite des Abdomens und ausserdem dadurch, dass der Endteil der beiden Mandibelkiefer im Vergleich mit dem der *D. rossica* stärker verlängert ist.

Fassen wir nun alle diese Tatsachen zusammen, so ergibt sich, dass die Zahl und die Anordnung der Tarsaldornen auf den Laufbeinen bei manchen Solifugen-Arten überhaupt keine genügend festen Merkmale darstellen, um auf Grunde dessen die Gattungsgruppen festzustellen. Das gleiche gilt nicht nur für die Arten der Kraepelin'schen Gattung *Daesia*, sondern meiner Erfahrung nach auch für einige andere Gattungen, insbesondere aber für die Gattung *Rhagodes* in der alten Auffassung derselben.

А. А. БИРУЛЯ. О НЕКОТОРЫХ НОВЫХ ИЛИ МАЛО ИЗВЕСТНЫХ ФАЛАНГАХ ИЗ СРЕДНЕЙ АЗИИ И С КАВКАЗА. II

РЕЗЮМЕ

Рöвер (Roewer) в недавно опубликованной сводке по отр. *Solifuga* [«Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs», vol. V (IV), 1933] широко использовал для классификации этого отряда вооружение краевыми шипами на лапках трех задних пар ног, которое, по его мнению, у видов фаланг не варииррует индивидуально и может быть использовано для установления не только родов, но и подсемейств. Воспользовавшись наличием большого материала в коллекции Зоологического музея Академии Наук по среднеазиатскому виду *Daesia rossica* Bir., автор настоящей заметки попытался проверить это положение Рöвера. Анализ указанных признаков, имевших, по мнению Рöвера, не только видовое, но и родовое значение, приводит автора к тому заключению, что хотя у вида *Daesia rossica* и наблюдается определенная норма в количестве и распределении парных шипов на ногощупальцах и бегательных ногах, но колебания, особенно в их количестве, настолько велики, что не позволяют в данном случае пользоваться этим признаком как родовым.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADEMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences
mathématiques et naturelles

Отделение математических
и естественных наук

П. В. ТЕРЕНТЬЕВ

МЕТОД ИНДЕКСОВ В СИСТЕМАТИКЕ

Автор показывает эволюцию индексов или показателей соотношений в связи с возрастом объекта на примере амфибий, предостерегает от так называемой «ложной корреляции» и указывает решение практической задачи систематики — сравнение коллектива с коллективом (разных видов или рас) и сравнение индивида с коллективом.

1. Показатели соотношений, или индексы, нашли себе широкое применение в систематике. Однако большинство зоологов применяет их, не считаясь с их математической природой, игнорирование которой вульгаризирует, а иногда и запутывает результаты исследований. Ниже даются в порядке предварительного сообщения некоторые соображения по данному вопросу.

Индекс чаще всего вычисляется как процентное соотношение одной величины к другой. Отбросив постоянный множитель 100, можем сказать, что обычное строение индекса есть:

$$\frac{y}{x}=K.$$

Отсюда имеем: $y=kx$. Подобного рода связь двух признаков (промеров) хорошо известна в биометрии под именем уравнения регрессии. Значит, можно сказать, что индекс есть коэффициент регрессии вида $y=kx$.

При обработке материала вычисляют k отдельно для каждого экземпляра и затем выводят из всех полученных данных среднее арифметическое. Строение последнего принимает, таким образом, следующий вид:

$$M_y=\frac{\Sigma\frac{y}{x}}{n}.$$

Систематики молчаливо принимают, что M_y представляет собой постоянную величину, лишь немного нарушаемую флуктуирующей изменчивостью. Геометрически это отвечает прямой линии, параллельной оси абсцисс, с иррегулярными колебаниями вокруг нее. Однако и теоретическое размышление и непосредственное наблюдение за-

ставляют энергично возражать против такого положения. Как частный случай может встретиться индекс, остающийся постоянным, но в громадном большинстве случаев он будет претерпевать большую или меньшую эволюцию в связи с изменением возраста. Это уже отмечено по отношению к рыбам Гудвилом (17) и Петровым (18).

В моих исследованиях по систематике амфибий эволюция индекса от одного края возрастного ряда до другого колебалась от 5 до 20%. Как пример могу привести индекс $\frac{D_1 p}{C.int.}$ [1], которому всеми авторами придается исключительное значение в систематике лягушек. У *Rana ridibunda* из-под Казани ($N = 196$) я нашел такую эволюцию его с возрастом:

L = длина тела в мм	$\frac{D_1 p}{C.\ int.}$
55	2.40
61	2.49
67	2.45
73	2.53
79	2.62
85	2.62
91	2.72
97	2.52
103	2.66
109	2.88

Видим (фиг. 1) ясно выраженную тенденцию, которая по способу средних может быть изображена уравнением:

$$k \backsim 2.029 + 0.007L.$$

Здесь L есть суррогат возраста, что, конечно, вполне допустимо. Итак, зависимость может быть выражена уравнением прямой линии, лежащей под углом к оси абсцисс: $k = \alpha + \beta L$. Ясно, что замена косой линии линией, параллельной оси абсцисс, — а именно это и имеет место при вычислении M_y, — есть недопустимо грубое представление действительности, ибо, хотя β мала, но, будучи помножена на L, она может явиться причиной значительных ошибок. В частности смесь особей разных возрастов (величин) в той или иной пробе повлечет за собой изменение среднего значения индекса, могущее дать повод к неправильным заключениям.

Если допустить в качестве первого приближения, обыкновенно оправдывающегося на практике, что зависимость между признаками y и x прямолинейна, то уравнение регрессии y на x примет вид:

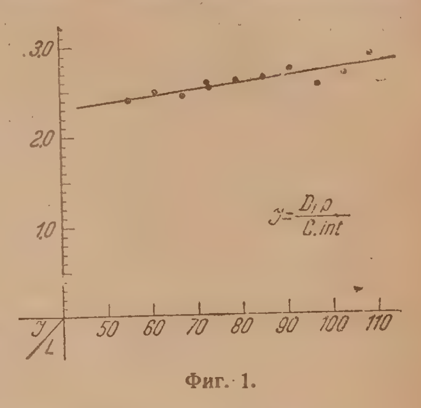
$$y = a + bx = a + kx,$$

[1] Обозначения промеров см. Biometrika, vol. XXIII, p. 29, 1931.

так как $b=k$. Коэффициент a обычно $\neq 0$, а потому разумнее пользоваться не индексами, дающими только наклон кривой, а полным уравнением регрессии. Ведь возможен случай полного равенства индексов при биологически и систематически далеко не безразличном неравенстве абсолютных размеров.

Подставляя в приведенное выше выражение найденное ранее значение k и производя соответственное развертывание, приходим к представлению y как функции двух переменных:

$$y=a+kx=a+(\alpha+\beta L)x=$$
$$=a+\alpha x+\beta Lx.$$



Фиг. 1.

Учитывая биологический смысл отдельных коэффициентов этой формулы, можно назвать a коэффициентом величины, α — коэффициентом пропорциональности и β — возрастным коэффициентом.

Возможно допустить, что взаимозависимость двух признаков будет сложнее, нежели прямолинейная. В таких случаях, редких на практике, нужно перейти к параболам степеней выше первой.

Нахождение коэффициентов уравнений возможно или методом наименьших квадратов или методом средних (1—7).

2. Вторым возражением против индексов вообще является «ложная» или «навеянная корреляция» («spurious correlation»). Еще почти сорок лет назад K. Pearson (8—15) показал, что если взять три (или более) переменных x, y, z, между которыми корреляция равна нулю, и построить индексы $u=f_1(x_1 y)$ и $v=f_2(z_1 y)$, то между u и v возникает совершенно определенная корреляционная зависимость. Величина этой зависимости будет в значительной степени определяться той формой функциональной связи, которая будет положена в основу наших индексов, и потому будет не биологической, а математической природы. Для случая, который встречается в систематике чаще всего, а именно для системы двух индексов $\frac{x_1}{x_3}$ и $\frac{x_2}{x_3}$, Pearson дал формулу, позволяющую легко вычислить величину «ложной корреляции»:

$$r_0=\frac{v_3^2}{\sqrt{v_1^2+v_3^2}\sqrt{v_2^2+v_3^2}}.$$

Здесь v_1, v_2 и v_3 означают соответственно коэффициенты вариации признаков x_1, x_2 и x_3. Вычитая r_0 из r, найденного в результате обработки эмпирической корреляционной решетки двух индексов, получим ту степень корреляционной связи, которая будет между

нашими индексами вне зависимости от их математической структуры. Разница получается существенная. Например, для индексов $\frac{\text{ширина}}{\text{длина}}$ и $\frac{\text{высота}}{\text{длина}}$ черепа человека имеем $r = 0.4857$, а $r_0 = 0.4008$. Значит, в действительности «органическая» корреляция между изучаемыми явлениями ничтожная: $\backsim 0.08$.

Явление «ложной корреляции» совершенно затушевывает истинную корреляционную структуру объекта. Между тем в моих предшествующих работах (16) было показано, что валютность признака для систематики определяется его положением в корреляционной структуре и что таксономический коэффициент должен состоять из равновалютных признаков-индикаторов. Без знания корреляционной структуры объекта невозможно и применение метода Heincke, ибо, ведя сравнение на коррелированных признаках, мы получаем в результате нарушение весов отдельных особенностей организма[1]. К сожалению, употребление уравнений регрессии вместо обычных индексов не спасает нас от «ложной корреляции», а потому приходится еще раз подчеркнуть необходимость предварительного исследования корреляционной структуры тех объектов, систематикой коих предполагают заниматься.

3. В практической работе систематика могут быть две основных задачи:

(1) Сравнение коллектива с коллективом

Наиболее простым явится вычерчивание на одной диаграмме линий регрессий какой-либо пары признаков для разных видов или рас. Так как наглядное изображение функциональной зависимости трех переменных на плоскости невозможно, то при составлении сравнительной диаграммы следует полагать L постоянным и равным какой-либо одной, одинаковой для всех сравниваемых видов, величине. Возможно и почленное сравнение уравнений. Для наших лягушек получаем, например, приближенным методом средних такую картину для признаков

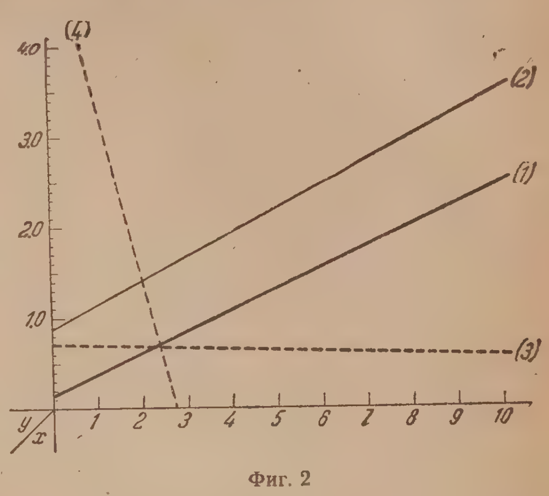
$D_1 p = x$ и $C.\ int. = y$:

(1) *Rana ridibunda ridibunda* Pall. $y \backsim 0.14 + 0.23x + 0.003\ Lx$.
(2) *R. esculenta lessonae* Cam. $y \backsim 0.90 + 0.26x + 0.004\ Lx$.
(3) *R. temporaria temporaria* L. $y \backsim 0.70 - 0.02x + 0.005\ Lx$.
(4) *R. arvalis arvalis* Nilss. $y \backsim 5.60 - 2.11x + 0.029\ Lx$.

Приняв во всех четырех случаях $L = 1$, можно изобразить эти уравнения графически (фиг. 2). Как видим, регрессии в данном случае специфичны. Интересно, что водные *Ranae esculentae* и наземные *Ranae*

[1] Эта причина кажется мне более веской, нежели соображения Романовского «О статистических критериях принадлежности особи к одному из видов» (Труды Туркестанского научного общества, т. II, 1925, стр. 173—184).

temporariae отличаются по знаку второго члена. Это показывает, что предлагаемый способ помогает вскрыть отличия в признаках, кажущихся при поверхностном сравнении весьма сходными.



Фиг. 2

(2) Сравнение индивида с коллективом

Желая определить, принадлежит ли данный экземпляр по той или иной паре признаков к намеченному коллективу, подставляем конкретные значения его признака x и L, как суррогата возраста, в уравнение $y = a + \alpha x + \beta L x$ и сравниваем полученный результат с действительно имеющейся у него степенью развития признака y. Возьмем, например, лягушку с $D_1 p = x = 3.3$, $L = 29.7$ и $C. int. = y = 2.0$. Подставляя величины x и L в соответствующие уравнения, получим такие теоретические значения при гипотетической принадлежности ее к разным видам:

	y_t	$\Delta\%$
Rana ridibunda ridibunda	1.19	40
R. esculenta lessonae	2.15	7
R. temporaria temporaria	1.12	44
R. arvalis arvalis	1.48	26

Последняя колонка показывает, на сколько процентов разнится y_t от эмпирического, принимая эмпирический $y = 100\%$. Ясно, что из всех четырех видов разница от *Rana esculenta lessonae* является наименьшей. В действительности промеры и были сделаны на экземпляре этого вида. Конечно, при массовой работе встретятся трансгрессии. Тогда нужно будет обратиться либо к другим признакам, либо к сообразно видоизмененному методу Heincke. Возможны и дальнейшие вариации предлагаемого метода. Во всяком случае обычные индексы должны быть признаны за весьма грубое орудие и сохранены лишь для ориентировочных исследований, внимание же систематиков должно быть сконцентрировано на линиях регрессий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванов, Теория ошибок, 1921.
2. Ритц, Математические методы в статистике, стр. 147—161, 1927.
3. Митропольский, Техника статистического исчисления, стр. 436—466, 1931.
4. Безикович, Приближенные вычисления, стр. 161—183, 1931.

5. Идельсон, Способ наименьших квадратов, изд. II, 1932.
6. Семендяев, Эмпирические формулы, 1933.
7. Скарборо, Численные методы математического анализа, стр. 337—369, 1934.
8. Pearson K., On a Form of Spurious Correlation (Proc. Royal Soc., vol. LX, № 367, p. 489—498, 1897).
9. Elderton, Frequency Curves, ed. II, p. 155—158, 1927.
10. Jule, On the Interpretation of Correlation between Indices (Journ. Royal Stat. Soc., vol. LXXIII, p. 644—647, 1910).
11. Jule, An Introduction to the Theory of Statistics, p. 215, 1927.
12. Леонтович, Элементарное пособие к применению методов, ч. II, стр. 127, 1911.
13. Ритц, Математические методы в статистике, стр. 277—278, 290, 1927.
14. Бобров, Экономическая статистика, стр. 381, 1930.
15. Хотимский, Статистика, стр. 530—531, 1932.
16. Terentjev P., Biometrische Untersuchungen über die Morphologischen Merkmale von Rana ridibunda Pall. (Biometrika, vol. XXIII, p. 25—27, 1931).
17. Гудвил С., Методологическая ошибка систематиков-ихтиологов, Вестник рыбопромышленности, 12, стр. 675—695, 1915.
18. Петров В. В., О некоторых вопросах методики разграничения мелких таксономических единиц, Изв. Отд. прикл. ихтиол., т. XI, вып. 1.

P. V. TERENTJEV. THE INDEX METHOD IN SYSTEMATICS

SUMMARY

1. The indices generally used by systematists are particular cases of the coefficients of regression.

2. Taking into consideration the evolution of many indices in proportion to the aging of objects it is found more expedient to make a direct use of the equations of regressions. In a great number of cases a good result is obtained from the equation

$$y = a + \alpha x + \beta Lx,$$

where y and x are the measurements, L = the length of the body, a = the coefficient of size, α = the coefficient of proportionality and β = the age coefficient. The coefficients are found by the method of least squares or the average method.

3. In selecting indices or their equivalents for the description of characters or structure one must beware of the phenomenon «spurious correlation» (sensu K. Pearson).

4. The first practical problem of systematics — the comparison of one collective with another — is solved either by means of numerical comparison of coefficients of a previously proposed equation, or by means of drawing up a graph.

5. The second practical problem of systematics — the comparison of an individual with a collective — is solved by means of substituting the concrete meaning of one of the characters in the equation characteristic for the collective compared. The result is compared with the real degree of development of the second character in the individual studied.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADEMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

П. В. ТЕРЕНТЬЕВ

К ВОПРОСУ О ВЗАИМООТНОШЕНИИ ВЕСА И РАЗМЕРОВ У *AMPHIBIA*

В статье дается обзор различных выражений связи между весом и размером вообще, и в частности применительно к бесхвостым земноводным. Устанавливается форма связи, ее специфичность и выводится понятие упитанности с соответствующей формулой.

1. В порядке углубления изучения экологии отдельных видов представляется интересным получить возможность определения степени упитанности животного. Умея оценивать последнюю, можно будет делать выводы о соответствии тех или иных конкретных условий экологическим запросам вида, ибо в первом приближении упитанность местного коллектива может быть принята за степень его благоденствия.

Понятие упитанности, определяющееся обычно как соотношение функции линейных размеров («роста») и массы, предполагает знание нами нормального взаимоотношения таковых у представителей интересующей нас группы. В отношении *Amphibia* и *Reptilia* вопрос этот, повидимому, вообще еще никем не затрагивался. В литературе имеются только немногочисленные разрозненные указания, ничего не дающие по существу рассматриваемого вопроса. Напротив, для рыб зависимость веса и роста была уже давно предметом внимания ряда авторов. Первые попытки решения вопроса восходят к «закону куба» Г. Спенсера (Spencer) (1). Четкую формулировку его применительно к рыбам дал Фультон (Fulton) (2), почему в дальнейшем такое представление и получило название «правила Фультона», хотя, по мнению Гейнке (Heincke), инициатива в данном вопросе принадлежит, повидимому, d'Arcy Thompson. Предлагалась разная математическая формулировка «правила Фультона». Например, Генсен (Hensen) (3) делил вес рыбы на третью степень ее длины. Сам Фультон (2) применял эту формулу в обратном направлении, вычисляя вес из длины. Оба приема используют по сути

одно и то же уравнение, где w — вес в граммах, а l — длина тела в сантиметрах:

$$w = \frac{kl^3}{100}.$$

Fulton принимал коэффициент k за постоянный, однако исследования ряда других авторов показали противное. Так, для камбалы Heincke (4) нашел k равным от 0.60 до 1.50, а Johannsen (5) — от 0.88 до 1.28. Для трески Russell (6) установил изменчивость от 0.45 до 1.03 и т. п. Это обстоятельство толкнуло исследователей на поиски иных форм зависимости роста и веса. Duncker G. дал подробную работу (7), в которой счел нужным рассматривать отношение веса и роста как корреляционную зависимость, а формулу перехода от одной величины к другой искать в виде уравнения регрессии. Последняя параболична, причем в ряде случаев хорошо выражается уравнением $y = a + bx + cx^2$. Дальнейшие авторы, стоя на корреляционной точке зрения, сконцентрировали свое внимание на уточнении интерполяции линии регрессии. Так, Тюрин П. В (8), проработав ряд примеров (Huso, Acipenser, Clupea, Salmo, Abramis, Rutilus, Leuciscus и Perca), пришел к следующим выводам[1]:

1) Вес рыбы находится в тесной функциональной зависимости от ее длины. причем зависимость эта близка к точной.

2) Зависимость между весом рыбы и ее длиной выражается степенной кривой. причем кривая 2-й степени выражает эту зависимость достаточно точно для практических целей.

3) На логарифмической сетке зависимость «вес — длина» рыбы изображается прямой линией. Следовательно, является возможным допустить, что «приращения логарифмов длины рыбы пропорциональны приращениям логарифмов ее веса».

4) Метод логарифмических скал при вычислении веса рыбы по ее длине допускает использование ограниченных по количеству материалов (8), которые при других приемах не могут быть использованы и вследствие этого теряют свою ценность.

5) Вычисленный вес рыбы по ее длине методом логарифмических скал с весом из непосредственных наблюдений не расходится.

К сожалению, вводя выражение регрессии в форме функции $y = ax^{b}$, Тюрин в своей работе не дает четкого сравнения с методом Duncker, оставляя в некоторых местах впечатление неясности. Появившаяся в дальнейшем работа В. К. Есипова (9) пропагандирует математически тождественное с предложенным Тюриным уравнение $g = al^{b}$, где g — вес, а l — длина. Интересной является мысль, что за типичный случай следует считать $g = al^3$ и что уклонения величины показателя b от 3 могут быть рассматриваемы как характе-

[1] На стр. 14 указанного сочинения Тюрин (8) говорит: «...вполне достаточно взять 10 экземпляров рыб, по возможности разных размеров».

ристика изменчивости геометрического подобия разных экземпляров изученной совокупности. К сожалению, автор излишне усложняет свои рассуждения математическими выкладками, тщетно пытаясь дедуктивно вывести свою формулу из сравнения формы тела рыбы с эллипсоидом. На несравненно более правильный путь стал в своей работе А. В. Лукин (10), который прежде всего дал справедливую критику предложенной Duncker форме регрессии $y = a + bx + cx^2$. Исходя из потребности экстраполяции данных о взрослых на молодые особи и элементарных физических соображений, Лукин выставил совершенно справедливое требование: «Основным условием приемлемости той или иной функции, выражающей кривую регрессии «длина — вес», является необходимость обращения в нуль y при $x = 0$». Требование это настолько естественно, что испытываешь невольное чувство удивления, как могли предшествующие авторы оставить его без внимания. Следовательно, приходится окончательно отказаться от использования уравнения $y = a + bx + cx^2 + \ldots$ в качестве общей интерполяционной формулы (хотя, конечно, иногда и этой функцией можно пользоваться для сглаживания данных внутри определенных эмпирических границ).

Во II части своей работы Лукин исследует пригодность уравнения $y = ax^b$ и, подобно Есипову, не только считает эту функцию вполне подходящей, но также пытается придать показателю b биологический и физический смысл. Он говорит (9): «...коэффициент b или, вернее, величина $b - 3$ может служить показателем изменчивости как упитанности, так и вообще формы тела рыбы с увеличением длины при сравнении разных видов, взятых для исследования при одних и тех же условиях. Эта же величина может служить для характеристики изменения упитанности с длиною у одного и того же вида в течение года». В случаях необходимости сугубо тщательной интерполяции Лукин рекомендует пользоваться выражением

$$y = 10^{a + b \log x + c \log^2 x}.$$

Отмечает он и возможность пертурбирующего воздействия сезонных процессов размножения, рекомендуя, подобно другим авторам, взвешивать рыб с удаленными внутренностями.

Просматривая литературу по иным систематическим группам животных и беседуя с соответствующими специалистами, я обнаружил интересные для рассматриваемой темы работы Ekitaro Nomura по изменчивости моллюсков. В двух первых из них (11) он доказывал, что выражение $a = kb^x$ хорошо передает целый ряд зависимостей раковин моллюсков, в том числе и отношение ширины раковины к весу. Nomura употребляет необычную математическую терминологию, что несколько путает в первый момент. Однако, если разо-

браться, то оказывается, что его прием идентичен с таковыми Лукина, Тюрина и Есипова. В частности для ширины раковины и веса он дает:

$$\text{вес} = 0.147 \text{ ширины } \frac{3.22}{}.$$

Другими словами, употребляя обычную терминологию:

$$y = 0.147\, x^{\underline{3.22}}.$$

В дальнейшем Nomura пытается доказать, правда только для взаимоотношения ширины и высоты раковины, что показатель степени есть величина постоянная для данного вида, а коэффициент пропорциональности меняется локально. В последующих исследованиях (12) Nomura переходит уже к множественной регрессии, которую он интерполирует уравнением:

$$w = K_1 a^{\underline{x}} bc = K_2 ab^{\underline{x}} c = K_3 abc^{\underline{x}}.$$

Здесь: w — вес раковины, a — высота, b — ширина, c — толщина и x — показатель степени. Все работы Nomura представляют собой образец чисто эмпирического подхода к задаче, подхода, даже не вполне смягченного техническими достижениями современной математической мысли.

По сути дела к множественной регрессии сводятся и приемы, употребляемые по отношению к сельскохозяйственным животным, например Кетле, Преслера, Мациевича, Крева, Клювер-Штрауха, Трухановского и др. (15), на что уже было обращено внимание специалистами-статистиками (14).

По тому же пути пошли в своей чрезвычайно интересной и содержательной статье Плохинский и Мастерова (15), определяя убойный вес скота при жизни как функцию двух аргументов, хотя задания у них были иные.

Наконец, и по отношению к человеку мы находим целый ряд весо-ростовых индексов (16), где L — рост в сантиметрах, а P — вес в килограммах:

$$\text{индекс Кетле} = \frac{100\,P}{L}; \qquad \text{индекс Бардина} = \frac{100\,P}{L^2};$$

$$\text{индекс Рорера} = \frac{P}{L^3}; \qquad \text{индекс Ливи} = \frac{\sqrt[3]{P}}{L}$$

и некоторые другие.

Переходя к обсуждению изложенного, нужно прежде всего подчеркнуть правильность взгляда Duncker на взаимоотношение веса и роста как на частный случай нелинейных корреляционных зависимостей вообще. К сожалению, последующие авторы недостаточно

оценили все последствия, которые логически вытекают из подобной точки зрения, и потому, вместо применения геометрически ясной формулы Fulton, пошли по пути поисков некоей «идеальной» формулы. Между тем всякому, знакомому с биометрией, ясно, что никакое уточнение интерполяционной формулы линии регрессии не может обеспечить удачного прогноза во всех случаях, так как последний зависит от степени рассеяния индивидуальных случаев вокруг линии регрессии, т. е. представляет принципиально другую задачу. Отсюда мне кажутся в корне неправильными все попытки определения упитанности как какого-то отношения веса к росту. Я предлагаю под внешней упитанностью понимать **степень уклонения веса экземпляра от нормального для его роста веса.** Иначе:

$$U = \frac{y_t - y}{\Sigma_y}.$$

Здесь y_t равно теоретическому значению веса, которое дает для данного роста линия регрессии. За последнюю вполне допустимо принимать параболу третьей степени, т. е. «закон куба» или «закон Fulton». Недаром Crevat (17), измерив за 30 лет около 50000 голов скота, считает наиболее рациональной формулой $P = ka^3$.

Под y подразумевается эмпирическое значение веса данного экземпляра, а Σ_y есть среднее квадратическое уклонения от средней линии регрессии. Последняя величина, как известно, равна $\sigma_y \sqrt{1 - \eta^2_{xy}}$. Значит, обозначив через L длину тела, а через P — эмпирический вес, можем написать коэффициент упитанности так:

$$\frac{KL^3 - P}{\sigma_P \sqrt{1 - \eta^2_{LP}}}.$$

Здесь k равно коэффициенту пропорциональности, находимому методом наименьших квадратов. Величина U должна оцениваться по правилам, применяемым к разделенным на σ уклонениям от среднего арифметического в обычных рядах распределения. Другими словами, вероятность каждого уклонения при гипотезе нормальной изменчивости может быть найдена по таблице Sheppard'а (18) и т. п. В случае желания можно обозначать упитанность, подобно антропологам (16), и словесными терминами:

—	U	+
Norma	0.00 — 0.50	Norma
Subnorma	0.51 — 1.00	Supranorma
Hypersubnorma	1.00 — 1.50	Hypersupranorma
Subanomalia	1.51 — 2.00	Subanomalia
Anomalia	2.01 — 2.50	Anomalia
Hyperanomalia	2.51 — ∞	Hyperanomalia

Возможно и непосредственное оперирование цифровыми данными.

2. Прежде чем перейти к изложению конкретного материала,

надо остановиться на одном техническом вопросе. Большинство низших позвоночных изучаются на консервированных экземплярах, вес и даже размеры коих, конечно, не равны таковым живых или свежеубитых. Мною было поставлено несколько опытов для определения «усадки» земноводных под влиянием коагуляции белков и экстрагирования жиров. Первый опыт заключался в том, что 8.II 1935 г. я измерил у 10 живых *Rana temporaria* L. длину тела = L, длину голени = T и общий вес = P. Затем лягушки были помещены в избыточное количество денатурата, из которого извлекались время от времени для повторных измерений. Принимая начальные (= прижизненные) значения промеров за 100%, можно составить такую таблицу:

Число дней консервации	0	14	36	55	325	352	364
L	100	92.8	93.5	93.2	94.9	94.6	94.6
T	100	97.4	96.7	96.7	96.0	97.2	96.6
P	100	76.0	74.5	76.0	78.0	77.8	78.4

Характер колебаний показывает, что после 1/2 месяца промеры можно считать практически постоянными. Стремясь, однако, установить более точно процессы, протекающие в первые дни пребывания животного в консервирующей жидкости, и заодно выяснить характер действия различных, наиболее употребительных жидкостей, я поставил серию краткосрочных опытов. Было взято 20 экземпляров *Rana temporaria* L. и, после измерения, 26.I 1936 г. помещено группами по 5 штук в разные жидкости. Вычисляя, как и в предыдущем случае, средние значения для каждого промера каждого контрольного исследования и относя их к начальным данным = 100%, получаем следующее:

Число дней консервации		0	1	3	5	7	12
Спирт-сырец 70°	L	100	95.5	95.0	94.8	95.0	94.5
	T	100	100.9	98.1	97.7	97.6	97.6
	P	100	92.1	88.4	88.4	88.9	90.0
Спирт-ректификат 70°	L	100	95.5	95.0	95.0	95.4	94.6
	T	100	99.0	97.6	97.7	97.7	97.8
	P	100	92.1	88.4	89.0	89.2	88.3
Спирт-ректификат 84°	L	100	92.3	92.4	92.4	91.9	92.5
	T	100	98.2	97.5	97.6	96.8	96.8
	P	100	77.6	73.5	80.9	73.2	74.0
Формалин 2%	L	100	95.5	95.3	96.0	96.4	96.5
	T	100	101.9	101.0	101.0	101.0	101.0
	P	100	108.6	138.5	148.5	151.0	151.1

Первое, что бросается в глаза, — это противоположные тенденции изменений в спиртах и в формалине. В последнем лягушки становятся как бы «отечными» вследствие накопления жидкости в подкожных лимфатических пространствах. Что касается формы функций процессов, происходящих при консервации, то, конечно, здесь можно было бы подобрать какое-либо интерполяционное уравнение. Однако

это представляет совершенно самостоятельную задачу. Здесь важно пока сделать три практических вывода.

1) После пребывания лягушки в течение трех суток в консервирующей жидкости размеры и вес могут считаться стабилизировавшимися. Исключение составляет вес формалиновых экземпляров, который достигает постоянства примерно через ½ месяца.

2) Для перехода от стабилизировавшихся размеров и веса консервированных лягушек к прижизненным следует помножить промер консервированного экземпляра на следующие ориентировочные поправочные коэффициенты:

	L	*T*	*P*
Денатурат	1.06	1.03	1.30
Спирт-сырец 70°	1.06	1.02	1.12
Спирт-ректификат 70°	1.05	1.02	1.13
Спирт-ректификат 84°	1.08	1.03	1.32
Формалин 2%	1.04	0.99	0.66

3) Точность измерений при том же самом наблюдателе и инструментах может быть принята такой:

	Предельная относительная погрешность	Предельная абсолютная погрешность (для взрослых)
L	0.5%	0.3 мм
T	0.7%	0.2 »
P	1.1%	0.5 г

Значит, при обработке взрослых лягушек бессмысленно отмечать размеры точнее 0.1 мм и вес точнее 0.5 г. Для молодых — соответствующие цифры легко находятся по значениям относительной погрешности.

Так как процесс взвешивания обильного материала занимает иной раз довольно много времени, то представлялось интересным выяснить, сколько времени можно держать на воздухе вынутых из консервирующей жидкости лягушек без опасения перейти принятую выше степень предельной погрешности. Из произведенных мною опытов видно, что при температуре комнаты + 19.5° C лягушки, лежащие на тарелке, теряют в своем весе от высыхания в одну минуту:

Консервирующая жидкость	% веса
Спирт-ректификат 70°	0.06
Спирт-денатурат старый	0.04
Формалин 2%	0.01

Значит, лягушек, вынутых из спирта, можно держать безопасно открытыми не более 20 минут, а таковых же из формалина значительно дольше — около 2 часов.

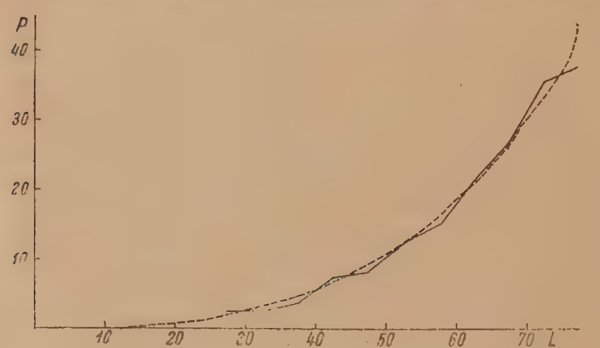
3. Основным материалом моей работы послужили *Rana temporaria* L., собранные летом 1934 г. в заповедном парке Петергофского биологического института, под Ленинградом. Законсервированы они были денатуратом. Сводя воедино промеры длины тела (в миллиметрах) и веса (в граммах) консервированных экземпляров, получаем такую таблицу (разбивка на ♂♂ и ♀♀ пока не делалась):

P \ L	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	Σ
0	1	11	19	3									34
5			6	23	20	3	1						53
10				2	3	20	5	1					31
15						1	12	14	1	1			29
20								10	6	2			18
25								5	19	2			26
30								2	4	7			13
35										5	1		6
40										2			2
45										4			4
50													
Σ	1	11	25	23	23	24	18	32	30	23	1		216

Коэффициент криволинейной корреляции получается здесь достаточно высоким:

$$\eta = 0.937 \pm 0.006.$$

Размах рассеяния вокруг линии регрессии: $\Sigma_y = \pm 3 \cdot 8$ г. В случае разбивки материала по полам величина эта, конечно, уменьшится. Интерполируя эмпирическую линию регрессии веса на рост, приходим к уравнению, где L равно длине тела в сантиметрах:



Фиг. 1. *Rana temporaria* L. Петергоф, 1934 г. Регрессия веса (в граммах) на длину тела (в миллиметрах): сплошная линия — эмпирическая, пунктир — вычисленная

$$P = 0.087\,L^3.$$

Совпадение этой функции с эмпирической линией регрессии видно глазомерно (фиг. 1), но может быть еще точнее отмечено на числах:

L	2.75	3.25	3.75	4.25	4.75	5.25	5.75	6.25	6.75	7.25	7.75
P_1	2.50	2.50	3.70	7.32	8.15	12.08	15.56	21.41	26.83	35.11	37.50
P_2	1.81	2.99	4.59	6.68	9.32	12.59	16.54	21.24	26.76	33.15	40.50

Здесь P_1 есть эмпирический вес в граммах, а P_2 — полученный по приведенной выше формуле. Тест добротности выравнивания (18) дает для данного случая $P_2 = 0.92$, т. е. прекрасный результат.

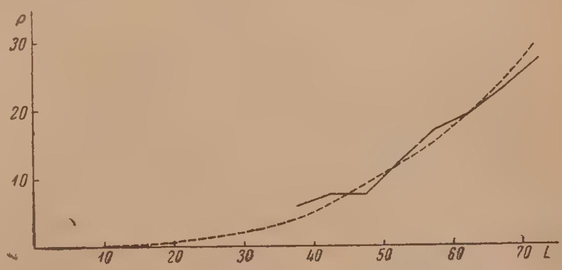
Для сравнения мною был изучен материал промеров живых лягушек, проделанных В. А. Красавцевым 2.VII 1935 г. в окрестностях г. Владимира. Оба пола даются пока вместе. Имеем такую корреляционную таблицу:

L / P	37.5	42.5	47.5	52.5	57.5	62.5	67.5	72.5	Σ
2.5	1								1
7.5	2	3	6	1					12
12.5				4	3	1			8
17.5				1	9	3	3		16
22.5					2	4	2		8
27.5							2	2	4
32.5							1		1
Σ	3	3	6	6	14	8	8	2	50

Обработка дает корреляционное отношение, равное $\eta = 0.944 \pm 0.010$, т. е. совершенно такое же, как и для спиртового материала из Петергофа. Значит, исследование консервированного материала с целью изучения веса допустимо. Уравнение регрессии получается (для L в см):

$$P = 0.080\,L^3 \text{ (фиг. 2).}$$

Размах рассеяния вокруг линии регрессии определяется $\Sigma_y = \pm 2.24$ г. Ранее приводились отдельные поправочные коэффициенты на действие консервирующих жидкостей. В какой фор-



Фиг. 2. *Rana temporaria* L. **Владимир, 1935 г. Регрессия веса на длину тела: сплошная линия — эмпирическая, пунктир — вычисленная**

ме их надлежит применить в данном случае? Для консервированных экземпляров будем иметь:

$$\frac{P}{L^3} = K_f.$$

Для живых это отношение несколько изменится:

$$K_v = \frac{\alpha P}{(\beta L)^3} = \frac{\alpha P}{\beta^3 L^3} = \frac{\alpha}{\beta^3} K_f.$$

В нашем случае для петергофских экземпляров должно принять $\alpha = 1.30$ и $\beta = 1.06$, откуда $K_v = 0.095$. Значит, в условиях Петергофа *Rana temporaria* L. наращивает на единицу длины тела большую массу, нежели под Владимиром. Этот факт пока биологически не понятен, но несомненно дальнейшие исследования позволят, выясняя его, приоткрыть перед нами новые стороны экологии земноводных.

4. В какой мере коэффициент регрессии является специфическим признаком? Окончательного ответа в данный момент дать еще нельзя. В качестве ориентировочных материалов можно воспользоваться промерами живых *Rana terrestris* Andr. из окрестностей г. Владимира, сделанными Б. А. Красавцевым 2 и 3.VII 1935 г. Получилась такая таблица:

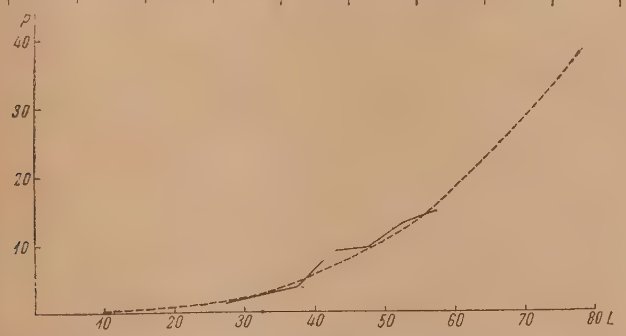
P \ L	27.5	32.5	37.5	42.5	47.5	52.5	57.5	Σ
1.5	5	2	1					8
4.5		1	4		1			6
7.5				4	3			7
10.5				2	6	4		12
13.5						15	1	16
16.5							1	1
Σ	5	3	5	6	10	19	2	50

Обработка дает $\eta = 0.943 \pm 0.011$ и $P = 0.085\ L^3$ (для L в см) при $\Sigma = \pm 1.48$ г (фиг. 3).

Г. Залежский сделал в Крыму между 3.VI и 25.VII 1935 г. промеры живых *Bufo viridis* Laur. Его данные образуют такую таблицу (см. табл. на стр. 1301).

Обработка дает здесь $\eta = 0.961 \pm 0.003$, а уравнение регрессии $P = 0.110\ L^3$ (при L в см), размах же колебаний вокруг линии регрессии $\Sigma_y = \pm 3.80$ г (фиг. 4). Сравнивая все полученные для разных видов данные, видим, что, как и следовало ожидать, разница между *Rana temporaria* L. и *R. terrestris* Andr. не велика, в то время как

P \ L	32.5	37.5	42.5	47.5	52.5	57.5	62.5	67.5	72.5	77.5	82.5	Σ
2.5	5											5
7.5	1	25	35	15								76
12.5		1	5	8	15							29
17.5				1	13	7						21
22.5						17	11					28
27.5						2	12	5				19
32.5							11	13	4			28
37.5							2	6	7			15
42.5								3	6	3		12
47.5								1	5	2	1	9
52.5											1	1
57.5									1	3		4
62.5												0
67.5										1		1
Σ	6	26	40	24	28	26	36	28	23	9	2	248



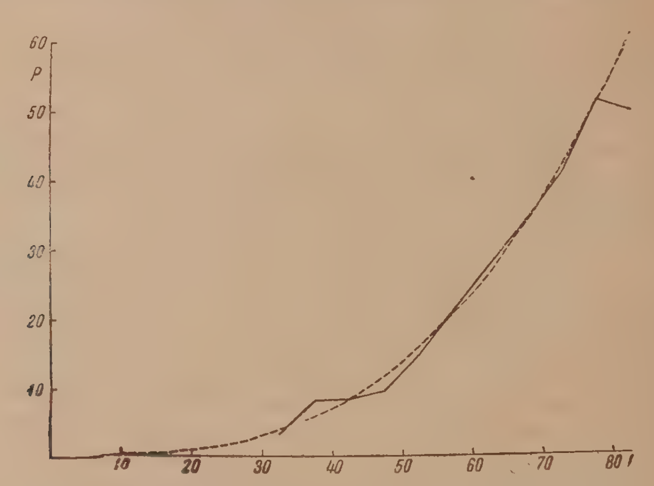
Фиг. 3. *Rana terrestris* Andr. Владимир, 1935 г. Регрессия веса на длину тела: сплошная линия — эмпирическая, пунктир — вычисленная

Bufo viridis Laur. отличается заметно большим темпом нарастания ассы на единицу длины тела. Будучи связан с данными количественного учета, последний факт, вероятно, лучше уяснит нам удельый вес разных видов земноводных в биоценозах, членами которых ни являются.

5. Подводя итоги, считаю долгом принести сердечную благодарность Б. А. Красавцеву и Г. Залежскому за производство по моей просьбе промеров живого материала.

Основные выводы работы можно резюмировать так:

1) Наиболее удобным и корректным способом интерполирования регрессии веса на длину тела следует признать $P = KL^3$.



Фиг. 4. *Bufo viridis* Laur. Крым, 1935 г. Регрессия веса на длину тела: сплошная линия — эмпирическая, пунктир — вычисленная

2) Консервировка не вносит существенных изменений в тесноту связи роста и веса, для корректирования же формы связи и самих значений промеров рекомендуется пользоваться эмпирическими поправочными коэффициентами.

3) Степень упитанности животного может оцениваться по формуле:

$$U = \frac{KL^3 - P}{\sigma_P \sqrt{1 - \eta_{LP}^2}}.$$

4) Вес является существенным экологическим и систематическим признаком и должен быть введен в исследовательский обиход этих дисциплин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Spencer H., The principles of biology, v. I, p. 151, 1898. (На русском яз.: Спенсер Г., Основания биологии, т. I, стр. 88, 1870.)
2. Fulton, 20th Ann. Rep. Fisher. B. Scotland, P. III, p. 326—439, 1902 и 22th Ann. Rep. Fisher. B. Scotland, P. III, p. 141—241, 1904.
3. Hensen, Wiss. Meeresuntersuch., Neue Folge, Bd. IV, p. 249—253, 1899.
4. Heincke, Die Beteiligung Deutschlands an der inter. Meeresforschung, IV —V Jahresber., S. 123, 1908.

5. Johannsen, Meddel. Komm. Havunders., Ser., Fiskeri, Bd. III, № 8, S. 58, 1910.
6. Russel, Fisher. Invest. Board Agricult. Fisher., Ser. II, vol. I, P. I, p. 130, 1914.
7. Duncker G., Die Korrelation zwischen Länge und Gewicht bei Fischen (Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen, Neue Folge, Bd. XV, H. 1, 1923).
8. Тюрин П. В., О зависимости между длиной рыбы и ее весом. (Труды Сибирской ихтиологической лаборатории, т. II, вып. III, 1927.)
9. Есипов В. К., К вопросу о зависимости между длиною тела рыбы и его весом. (Труды Сибирской научной рыбохозяйственной станции, т. III, вып. 3, 1929.)
10. Лукин А. В., К вопросу о зависимости между длиной и весом у рыб. (Ученые записки Казанского государственного университета, год издания 92-й, книга 5—6, вып. 1, 1932.)
11. Nomura E., An Application of $a = kb^x$ in Expressing the Growth Relation in the Freshwater Bivalve (Science Reports of the Tohoku Imper. University, Fourth Series, Biology, vol. II, № 1, p. 57—62, 1926). Further Studies on the Applicability of $a = kb^x$ in Expressing the Growth Relations in Molluscian Shells (ibid., p. 63—84).
12. Nomura E., On the Relation between Weight and Dimensions in the Bivalves (Sc. Rep. of the Tohoku Imper. University, Fourth Series, Biology, vol. III, № 2, 1928, p. 113—124). On the Relation between Weight and Dimensions in the Gastropods (ibid., p. 125—131).
13. Большая советская энциклопедия, т. X, стр. 420.
14. Боярский, Старовский, Хотимский, Ястремский, Теория математической статистики, II издание, стр. 344—347, 1931.
15. Плохинский и Мастерова, Определение убойного веса скота при жизни. (Проблемы животноводства, № 10, стр. 58—71, 1935.)
16. Методика антропометрических исследований, под ред. В. П. Бунака, изд. III, стр. 46, 138, 1931.
17. Crevat, Ученые записки Казанского ветеринарного института, т. XI, вып. 5—6, стр. 202—314, 1894.
18. Pearson K., Tables for Statisticians, p. I, ed. III, p. XXXI, p. 2—8, 1930.

P. V. TERENTJEV. ON THE QUESTION OF CORRELATION OF WEIGHT AND DIMENSIONS IN *AMPHIBIA*

SUMMARY

Operating with measurements of frogs and toads the author arrives at the following conclusions:

1. The most convenient and correct method of interpolation of the regression of weight in regard to the length of the body must be considered the formula:

$$P = kL^3.$$

2. Preservation does not introduce any changes in the degree of connection between dimensions and weight; for correcting the form of connection and the values of the measurements themselves it is recommended to make use of empirical correcting coefficients.

3. The state of nourishment of the animal may be estimated according to the formula:

$$U = \frac{kL^3 - P}{\sigma_P \sqrt{1 - \eta^2_{LP}}}.$$

Here L = the length of the body, P = the weight, σ_p = the average square deviation of weight and η_{LP} = the coefficient of the curved line of correlation of the length of body and weight.

4. The weight is an essential ecological and systematical character and must be introduced into the investigation practice of these disciplines.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADEMIE DES SCIENCES DE L'URSS
Classe des sciences mathématiques et naturelles
Отделение математических и естественных наук

С. Е. КЛЕЙНЕНБЕРГ

К ВОПРОСУ ОБ АЛЬБИНИЗМЕ У ДЕЛЬФИНОВ

В предлагаемой статье автор приводит все известные ему случаи альбинизма у дельфинов, а также оригинальное описание альбиноса *Phocaena relicta* Abel., обращая внимание на своеобразное распределение пигмента на теле альбиносов *Phocaena*.

Явление альбинизма довольно широко распространено среди домашних животных. Благодаря наследованию этого признака человек путем искусственного подбора и скрещиваний закрепил эту мутацию настолько, что добился особых альбинистических пород животных, каковыми являются ангорские кролики, белые крысы и т. д.

Полный альбинизм животных в природе — явление в общем редкое. Частичный альбинизм, т. е. депигментация некоторых частей поверхности тела животного, встречается в природе чаще.

Наиболее распространен частичный и полный альбинизм среди наземных млекопитающих и птиц, у которых происходит депигментация волосяного покрова и оперения. У животных, лишенных оперения и шерсти, случаи альбинизма очень редки.

Известны немногие случаи аномальной окраски кожи у так называемых золотых рыбок. Кроме этого, С. Коссвиг (Kosswig) (4) описывает два случая частичного альбинизма с депигментацией глаз у *Macropodus viridi-auratus* Lacepède и *Xiphophorus helleri* Heckel. При этом автор указывает, что у обоих видов ген альбинизма рецессивный.

Шрейтмюллер (Schreitmüller) приводит два случая аномальной окраски у рыб: меланизм у *Nemachilus barbatus* L. (10), причем автор указывает, что ему пришлось видеть несколько лет тому назад частичного альбиноса этого же вида, и полный альбинизм у *Xiphophorus helleri* Heckel (9). Родители этого экземпляра имели нормальную окраску и из 150 экземпляров их потомства было 4 полных альбиноса: два самца и две самки.

Относительно альбинизма у китообразных, по крайней мере автору, известно очень немного указаний.

Бьярис Огорд (6) приводит следующий случай альбинизма у *Balaenoptera phisalus* L.: «26 января, — пишет доктор Брюс, — он увидел нечто, принятое им сначала за кусок льда, но вблизи оказавшееся белым сельдяным китом, альбиносом чистейшей воды. Вокруг было множество китов и ледяных гор».

Старший научный сотрудник ВНИРО (Москва) С. К. Клумов любезно сообщил мне наблюдаемый им случай частичного альбинизма у дальневосточного дельфина (sp?). В августе 1930 г. в Сахалинском заливе катер, на котором ехал Клумов, довольно долго сопровождал дельфин, который был серого цвета с крупными белыми пятнами различной формы, покрывавшими все тело животного и придававшими окраске дельфина характер типичной пегости.

Мальм (5), давая описание дельфинов Черного моря, пишет: «У дельфинов имеет место явление альбинизма. Так, в 1928 г. под Балаклавой был убит совершенно белый *Delphinus delphis*. Повидимому, это явление очень редкое».



Фиг. 1. Альбинос ***Phocaena phocaena*** **(фото Петерса)**

Принц (Prince) (8) приводит описание частичного альбинизма у дельфина из рода *Phocaena*, пойманного у берегов Шотландии. Этот экземпляр был неполовозрелой самкой 90 см в длину.

И, наконец, Петерс (Peters) (7) дает подробное описание случая частичного альбинизма у *Phocaena phocaena* L. Это был самец 150 см в длину, добытый в июле 1929 г. в Скагераке (фиг. 1).

Окраска этого экземпляра, как видно из фотографии и из описания Петерса, была чрезвычайно своеобразной. Корпус его был чисто белого цвета. Глаза пигментированы. Пигмент сохранился на губах, от внешнего края их до ряда зубов; затем в виде большого пятна на лбу, переходящего на затылке животного в узкую полосу, идущую по хребту. Полоса эта, доходя до спинного плавника, раздваивалась и окружала основание последнего, прекращаясь за ним. Пигмент сохранился также на верхнем углу спинного плавника и в виде немногочисленных маленьких пятен на хвостовом плавнике. Таким образом перед нами типичный частичный альбинос *Phocaena phocaena* L., сохранивший наибольшее количество пигмента на губах, голове и спинном плавнике.

В апреле 1928 г. в Черном море в районе между Балаклавой и Ялтой был добыт белый дельфин. Это был альбинос *Phocaena relicta* Abel. (фиг. 2).

Окраска его была такова: все тело чисто белого цвета. Глаза пигментированы. Пигмент сохранился на губах в виде продольной, медиальной полосы у основания лобных костей; затем в виде полумесяца на голове, непосредственно за дыхалом, сплошным как бы чехлом на верхней части спинного плавника и в виде маленьких пятен на задней части его и верхней части хвостового плавника. (Темные пятна, видные на фотографии на боках тела этого животного,—не пигментные пятна, а раны и кровь.) Таким образом этот экземпляр представляет собой также типичного частичного альбиноса *Phocaena relicta* Abel., с наибольшей концентрацией пигмента на губах, голове и спинном плавнике.



Фиг. 2. Альбинос *Phocaena relicta* (фото Е. Бойко)

Любопытно, что в Черном море *Phocaena relicta* добывается обычно в количестве нескольких тысяч голов в год, тогда как *Delphinus delphis* добывается в количестве 100 тысяч голов в год, и нам за все время трехлетней работы над дельфинами Черного моря ни разу не приходилось видеть или слышать от дельфинопромышленников о случаях альбинизма у *Delphinus delphis*[1].

Кроме того, почти все литературные указания на альбинизм у дельфинов относятся также только к *Phocaena*.

Все это позволяет высказать предположение, что, очевидно, явление альбинизма сравнительно распространено среди *Phocaena*, чего мы не можем сказать относительно других представителей *Delphinidae*.

Сравнивая окраску описываемого нами экземпляра с окраской альбиноса *Phocaena phocaena*, описанного Петерсом, замечаем, что

[1] Мальм (5) в своем указании на альбинизм у *Delph. delphis* не приводит подробного описания этого экземпляра. Тождественность района и года добычи альбиноса *Delphinus delphis*, приводимого Мальмом, с районом и годом добычи описываемого нами экземпляра позволяет предположить, что Мальм привел свое указание с чьих-нибудь слов при неверном определении вида. В таком случае указание Мальма относится не к *Delphinus delphis*, а к описываемому нами экземпляру *Phocaena relicta*.

у первого, несмотря на то, что он вообще менее пигментирован, пигмент сохраняется на тех же местах тела, как и у экземпляра, описанного Петерсом. В обоих случаях пигмент концентрируется на губах, голове и спинном плавнике.

Такое топографически одинаковое расположение пигмента (если не считать его простым совпадением, ибо количество нашего материала не позволяет исключить эту возможность) может быть объяснено различно. Все, кто наблюдал когда-либо дельфинов в море, наверное, заметили, что, набирая воздух, и при спокойном движении дельфин показывает из воды лишь верхнюю часть головы, спинной плавник и отчасти хвостовой плавник. Именно на этих частях тела у обоих наших альбиносов сохранился пигмент. Это обстоятельство позволяет предположить, что почти постоянное соприкосновение с воздухом, т. е. химизм последнего, способствует сохранению пигмента[1]. Но, кроме этого предположения, обращает на себя внимание еще одно интересное обстоятельство.

Типичный северный дельфин *Delphinapterus leucas* Pall. [ныне описанный Клумовым как три самостоятельных вида: *Delphinapterus freimani* Klumov — беломорская белуха (2), *Delphinapterus leucas* Pall. — карская белуха и *Delphinapterus dorofeevi* Klumov — тихоокеанская белуха (3)] носит нормальную окраску чисто белого цвета с пигментированными глазами. У этого дельфина отсутствует спинной плавник и сравнительно с *Phocaena* изменена морфология головы, а именно — присутствует так называемый лобный бугор, который сильно изменяет также проксимальную часть головы. Таким образом замечаем, что пигмент у альбиносов *Phocaena* концентрируется именно на тех местах тела, которые у *Delphinapterus* либо редуцировались (спинной плавник), либо изменились (лобный бугор и губы) в процессе эволюции.

Любопытно, что *Delphinapterus* приобретает белый цвет с возрастом, претерпевая во время своего постэмбрионального развития несколько изменений в окраске. Так, родившаяся белуха имеет окраску, обычную для всех дельфинов; в период между первым и вторым годами жизни, по данным Дорофеева и Клумова (1), животное приобретает серую окраску; «в возрасте от двух до трех лет белухи имеют голубую окраску» (1) и, наконец, животные от трех лет и более носят чисто белую окраску. Такая смена окраски является безусловно отражением филогении белухи, а следовательно, ее предок носил окраску, нормальную для всех дельфинов.

Интересно, что спинной плавник у белухи в эмбриональной стадии закладывается, но не развивается, и у некоторых взрослых чисто белых экземпляров то место, где должен быть спинной плав-

[1] Предположение автора о влиянии химизма воздуха на сохранение пигмента недостаточно обосновано и нуждается в проверке. *Ред.*

ник, бывает иногда настолько пигментировано, что создает впечатление темной полоски.

Концентрация пигмента у альбиносов *Phocaena* именно на тех местах тела, которые у *Delphinapterus* морфологически изменились в процессе эволюции, и постэмбриональные изменения в окраске белухи становятся тем более интересны, если учесть: 1) что *Phocaena* стоит на эволюционной лестнице относительно *Delphinapterus*, несомненно, ближе, чем клювокрылые дельфины; 2) что альбинизм сравнительно распространен, как это уже отмечалось, именно среди *Phocaena* и, наконец, 3) что областью расселения *Phocaena* и *Delphinapterus* можно предполагать североатлантические воды.

Однако делать здесь какие-либо обобщающие выводы относительно филогенеза *Phocaena* и *Delphinapterus* мы не считаем возможным. Этот вопрос является предметом самостоятельного, очень серьезного и большого исследования, для которого мы пока не располагаем почти никакими материалами по эволюции и зоогеографии *Delphinidae*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дорофеев С. В. и Клумов С. К., К вопросу об определении возраста белухи. Морские млекопитающие Дальнего Востока. Труды ВНИРО, т. III, Москва, 1935.
2. Клумов С. К., Новая форма белухи. Рыбное хозяйство СССР, № 7, 1935.
3. Клумов С. К., Тихоокеанская форма белухи. Рыбное хозяйство СССР, № 11, 1935.
4. Kosswig C., Über Albinismus bei Fischen. Zool. Anzeiger. Bd. 110, H. 1/2, 1/IV, 1935.
5. Мальм Е. Н., Дельфины Черного моря. Природа, № 2, 1933.
6. Огорд Б., Исследования и промысел китов в Южном Ледовитом океане, т. I и II. Цитирована по переводу М. П. и М. А. Дьяконовых, находящемуся у Б. А. Зенковича (Ленинград).
7. Peters, Über einen weiszen Tummler. Der Fischerbote. Heft 22, November, 1929.
8. Prince E. E., Some rare cases of albinism in animals. The Ottava Naturalist. Bd. 27, 1913.
9. Schreitmüller W., Totalalbinos von Xiphophorus helleri. Heckel. und Xanthoristische Lebistes reticulatus. Peters. Zool. Anzeiger. Bd. 106, H. 12, 15/VI, 1934.
10. Schreitmüller W., Ein Totalnigrino von Nemachilus barbatus. Linneus. Zool. Anzeiger. Bd. 107, H. 1/2, 2/VII, 1934.

S. E. KLEINENBERG. POUR LA QUESTION DE L'ALBINISME DES DAUPHINS

RÉSUMÉ

L'albinisme est un phénomène fort rare chez les cétacés. Les données littéraires concernant l'albinisme chez les dauphins se rapportent presque toutes au genre *Phocaena*.

En 1928 un semi-albinos de *Phocaena relicta* Abel. a été péché dans la mer Noire près de Balaclava (photo No. 2). En comparant la couleur de cet exemplaire avec celle de l'albinos *Phocaena phocaena* L. (photo No. 1) décrit par Peters (7), nous remarquons que chez ces deux albinos le pigment se concentre sur les mêmes places du corps, c'est-à-dire sur les lèvres, la tête et la nageoire dorsale.

Le dauphin typique du Nord-*Delphinapterus leucas* Pull. est normalement d'un blanc pur. Il se distingue de *Phocaena* par la morphologie modifiée de la tête et le manque de la nageoire dorsale. Nous voyons ainsi que chez les albinos de *Phocaena* le pigment se concentre sur es places du corps qui chez *Delphinapterus* ont été modifiées ou réduites durant le processus d'évolution.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

СОДЕРЖАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СЕРИИ ЗА 1936 г.

TABLE DES MATIÈRES DE LA SÉRIE BIOLOGIQUE 1936

Nr. 1

Стр.

Pag.

Оглавление

Стр.

Sommaire

Pag.

Техредактор Е. Шнобель

Сдано в набор 26/XI 1936 г. Подписано к печати 20/I 1937 г. Формат 72 × 105 см. 15½ печ. л. 57 720 зн. в печ. л. АНИ № 511. Заказ № 1585. Тираж 2 300 экз. Уполном. Главлита Б-8908

18-я типография треста «Полиграфкнига», Москва, Шубинский пер., 10

14